



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
Direttore Prof. Mario Petrini

Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica
Direttore Prof. Paolo Miccoli

Dipartimento di Ricerca Traslationale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e
Chirurgia
Direttore Prof. Giulio Guido

CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

REUPTAKE DEL RADIOIODIO IN UN CASO DI
CARCINOMA PAPILLARE DEDIFFERENZIATO
DELLA TIROIDE TRATTATO CON SORAFENIB

RELATORE

Dr. ALESSANDRO ANTONELLI

CANDIDATO

UGO POLITTI

ANNO ACCADEMICO 2012/2013

INDICE GENERALE

INTRODUZIONE	1
Il carcinoma della tiroide	1
Epidemiologia	1
Fattori di rischio	3
Anatomia patologica	3
Evoluzione clinica	5
Possibilità terapeutiche	7
Patogenesi	9
Tirosin-chinasi	11
RET e BRAF	11
RAS	14
Inibitori dei recettori tirosin-chinasici	15
Vandetanib	16
Sunitinib	17
Motesanib	18
Axitinib	19
Pazopanib	19
Imatinib	20
Gefitinib	20
Selumetinib	21
PD98059	22
Inibitori dell'istone deacetilasi	23
Sorafenib	23
Studi clinici sul Sorafenib nel trattamento del carcinoma della tiroide	26
Caso clinico	28
Conclusioni	40
BIBLIOGRAFIA	43

INTRODUZIONE

Dopo aver vagliato i più comuni approcci terapeutici nei confronti del carcinoma papillare della tiroide ed aver analizzato le innovative terapie sperimentali impiegate nel trattamento delle forme avanzate, questa tesi dimostra la sorprendente efficacia della terapia con Sorafenib nel favorire il re-differenziamento di un caso di carcinoma papillare de-differenziato della tiroide con metastasi a distanza, che, diventato refrattario alla terapia con radioiodio, ha ripreso a captare il ^{131}I a distanza di anni.

Il carcinoma della tiroide

Epidemiologia

Circa il 4-5% della popolazione generale presenta noduli tiroidei, dei quali il 4% è un carcinoma, nella grande maggioranza dei casi, differenziato. È stata notata una predominanza femminile nei pazienti che sviluppano carcinomi tiroidei in età giovane-adulta o nella mezza età, mentre nell'infanzia e nell'età avanzata si riscontra un'uguale distribuzione in entrambi i sessi.

I carcinomi tiroidei possono originare:

- dalle cellule parafollicolari o cellule C che daranno luogo a un carcinoma midollare (2% dei casi);
- dai tireociti, dai quali può originare:
 - carcinoma papillare (85%);
 - carcinoma follicolare (5-15%);
 - carcinoma anaplastico (<5 %).

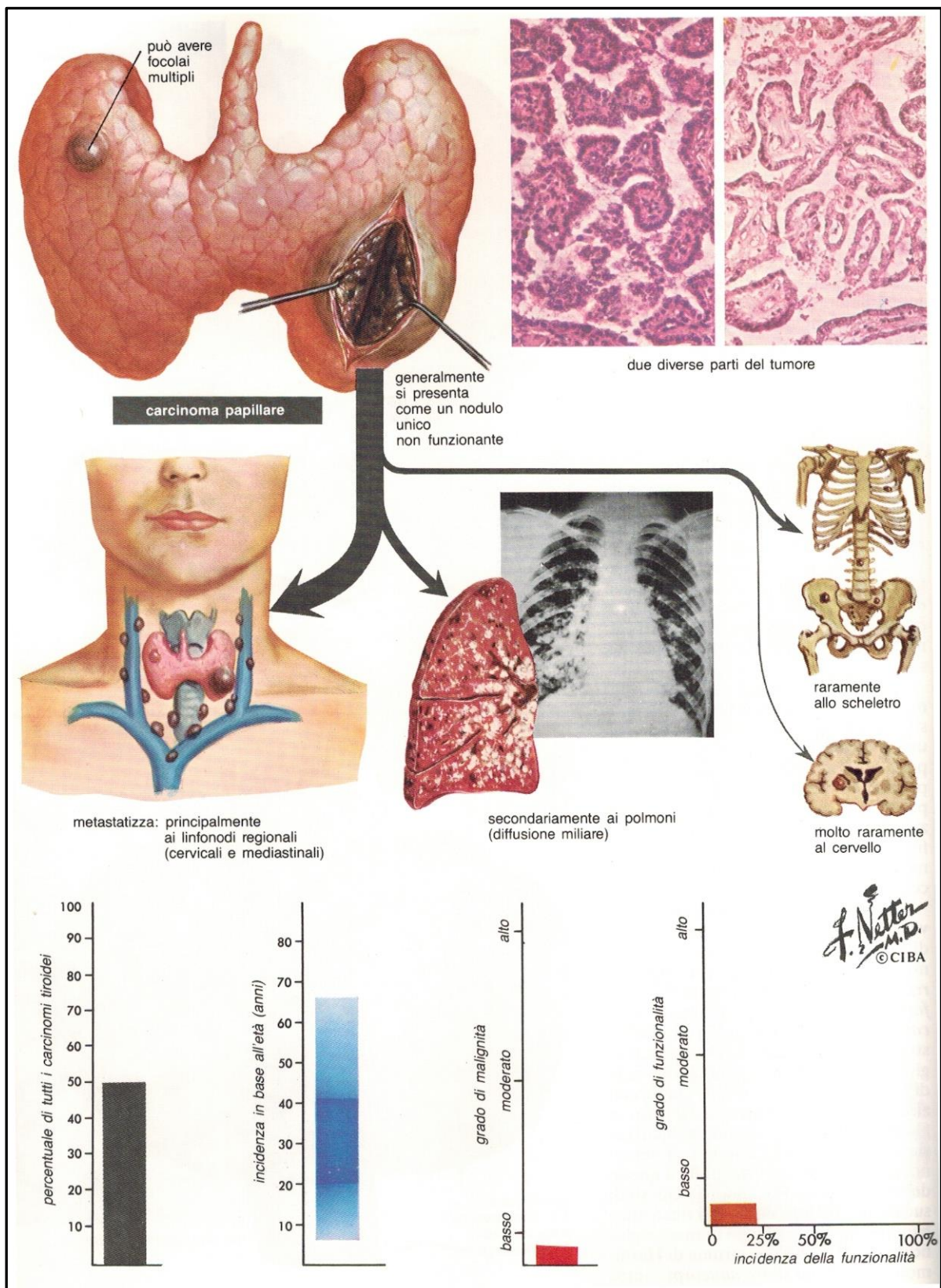


Figura 1: Quadro generale del carcinoma papillare della tiroide.¹

¹ "Atlante di anatomia, fisiopatologia e clinica Vol. 5: Apparato endocrino e malattie metaboliche" Frank H. Netter.

Fattori di rischio

Il fattore più importante correlato allo sviluppo di neoplasie tiroidee è rappresentato dalle radiazioni ionizzanti, specie se la zona d'irraggiamento corrisponde alla regione cervicale e se l'esposizione si verifica in età pediatrica. Inoltre il fall-out radioattivo ha determinato un significativo aumento dell'incidenza di carcinoma tiroidei nei bambini esposti alle radiazioni dopo il disastro nucleare di Chernobyl nel 1986. La carenza di iodio, associata ad un aumento dei livelli di TSH circolante, è legata ad una maggiore frequenza di carcinomi follicolari.

L'autoimmunità tiroidea sembra essere associata al carcinoma papillare della tiroide, inoltre vi è una correlazione tra la tiroidite di Hashimoto e lo sviluppo di linfomi della tiroide.

La familiarità risulta essere rilevante solo per il carcinoma midollare della tiroide, rientrando tale patologia nel quadro delle neoplasie endocrine multiple (MEN 2A e 2B).

Anatomia patologica

Il carcinoma papillare può presentarsi come una lesione singola o, più frequentemente, come una lesione multifocale e bilaterale. Alcuni tumori possono essere ben circoscritti e capsulati, altri invece presentano margini mal definiti e una maggiore tendenza ad infiltrare le strutture adiacenti. Le lesioni possono contenere aree di fibrosi, calcificazioni e spesso sono cistiche.

Da un punto di vista microscopico il carcinoma papillare è caratterizzato da:

- papille ramificate costituite da un'asse fibro-vascolare, rivestito da cellule epiteliali follicolari tiroidee più o meno differenziate;
- nuclei contenenti una cromatina finemente dispersa, che assume un aspetto otticamente vuoto, tale da conferire l'appellativo di nuclei a vetro smerigliato;

- pseudoinclusioni nucleari che corrispondono a invaginazioni del citoplasma nel nucleo;
- corpi psammomatosi, calcificazioni concentriche rappresentanti lo scheletro delle strutture papillari.

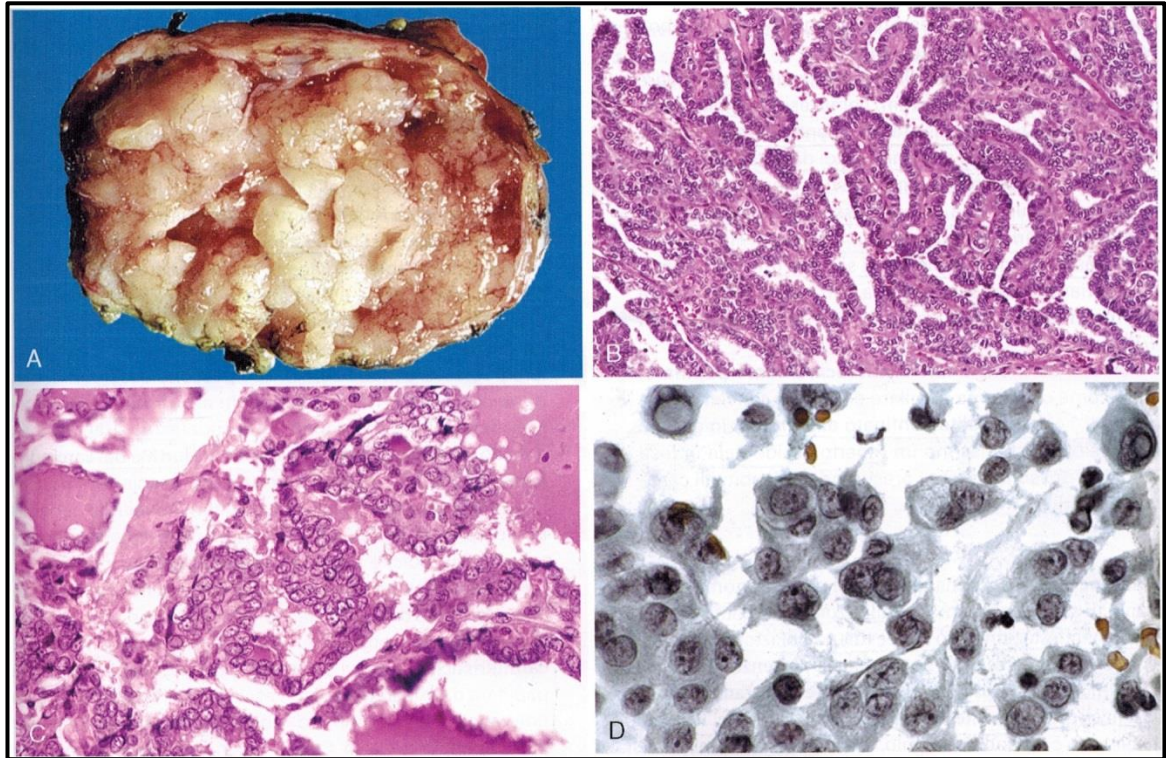


Figura 2 Carcinoma papillare della tiroide. **A.** L'aspetto macroscopico del carcinoma papillare evidenzia strutture papillari ben distinguibili. Questo particolare esempio mostra papille ben formate (**B**) rivestite da cellule con i caratteristici nuclei otticamente vuoti anche denominati "occhi dell'orfanella Annie" (**C**). **D.** Cellule di un carcinoma papillare ottenute per aspirazione mediante ago sottile. In alcune cellule aspirate sono visibili le caratteristiche inclusioni intranucleari.²

Il carcinoma papillare presenta una maggiore tendenza a metastatizzare localmente nelle stazioni linfonodali laterocervicali e del comparto centrale.

² "Le basi patologiche delle malattie Vol. 2" Robbins e Cotran.

Oltre alla forma classica esistono le seguenti varianti:

- “follicolare”, non presentante il caratteristico aspetto papillare bensì un’architettura quasi interamente follicolare, ma caratterizzata dalle alterazioni citologiche sopradette;
- “a cellule alte”, caratterizzato da cellule alte colonnari con citoplasma intensamente eosinofilo, con una tendenza a insorgere nei soggetti anziani e una maggiormente frequente invasione vascolare, estensione extratiroidea e metastatizzazione cervicale e a distanza;
- “sclerosante diffusa”, che colpisce individui più giovani, più frequentemente di sesso maschile, ed è caratterizzata dalla presenza di nidi di metaplasia squamosa oltre che da una fibrosi estesa, diffusa a tutta la ghiandola;
- “microcarcinoma papillare”, neoplasia di dimensioni inferiori a 1 cm solitamente confinata alla tiroide, riscontrata accidentalmente a seguito di tiroidectomia;
- “trabecolare solida”;
- “a cellule ossifile” o “cellule di Hurtle”.

Evoluzione clinica

La maggior parte dei carcinomi tiroidei si presenta come un nodulo asintomatico in sede cervicale, e non di rado si giunge alla diagnosi di carcinoma a seguito del riscontro di una tumefazione linfonodale in sede laterocervicale; la metastatizzazione locale non sembra influenzare la prognosi, generalmente buona, dei pazienti affetti. L’eventuale presenza di

disfonia, disfagia e dispnea indica uno stadio avanzato di malattia, con conseguente interessamento delle strutture adiacenti come i nervi ricorrenti, l'esofago e la trachea.

Ai fini di una differenziazione mediante imaging tra lesioni benigne e maligne, ci si può avvalere della scintigrafia e dell'ecografia. All'indagine scintigrafica con ^{123}I o Pertecnetato- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ i noduli maligni appaiono "freddi", quindi non captanti. All'esame ecografico, le caratteristiche maligne possono essere: l'ipoecogenicità, la presenza di microcalcificazioni, la vascolarizzazione centrale, margini sfumati e infiltranti e se la lesione appare più alta che larga in sezione trasversale. In relazione al sospetto ecografico è possibile eseguire un agoaspirato (FNAB) del nodulo, che ne consenta un'accurata valutazione anatomo-patologica (tabella 1).

Il carcinoma papillare si correla a una tasso di sopravvivenza a 10 anni di oltre il 95%, secondo la stadiazione AGES/AMES si possono distinguere due classi di rischio:

- "basso rischio" (mortalità 1-2% a 10 aa) se si tratta di uomini di età inferiore a 41 aa o di donne di età inferiore a 51 aa, con tumore confinato alla ghiandola ed assenza di metastasi regionali o a distanza; pazienti più anziani senza localizzazione extra-tiroidee o al di fuori della capsula tiroidea; tumore con diametro massimo inferiore a 4 cm;
- "alto rischio" (mortalità 50-75% a 10 aa) tutti i pazienti non appartenenti alla classe precedente.

Tuttavia fino al 5% dei casi va incontro, nel corso della progressione tumorale, a un processo di dedifferenziazione cellulare, caratterizzata da una crescita più aggressiva, dalla diffusione metastatica, e dalla perdita della capacità di captare lo iodio.¹

Tabella 1: Caratteristiche ecografiche e cliniche dei noduli tiroidei e raccomandazioni per il FNA.³

Caratteristiche ecografiche e cliniche del nodulo	Dimensioni soglia del nodulo per cui raccomandare il FNA	
Storia ad alto rischio ^a		
Nodulo CON caratteristiche ecografiche sospette ^b	>5 mm	Raccomandazione A
Nodulo SENZA caratteristiche ecografiche sospette ^b	>5mm	Raccomandazione I
Linfonodi cervicali anormali	Tutte ^c	Raccomandazione A
Presenza di micro calcificazioni del nodulo	≥1 cm	Raccomandazione B
Nodulo solido		
E ipoecogeno	>1 cm	Raccomandazione B
E iso- o iperecogeno	≥1-1,5 cm	Raccomandazione C
Nodulo misto cistico-solido		
CON qualsiasi caratteristica ecografica di sospetto ^b	≥1,5-2 cm	Raccomandazione B
SENZA caratteristiche ecografiche di sospetto	≥2 cm	Raccomandazione C
Nodulo spongiforme	≥2 cm ^d	Raccomandazione C
Nodulo interamente cistico	FNA non indicato ^e	Raccomandazione E

- a. Storia ad alto rischio: storia di carcinoma tiroideo in uno o più parenti di primo grado; storia di radioterapia esterna da bambino; esposizione a radiazioni ionizzanti nell'infanzia o nell'adolescenza; precedente emitiroidectomia con riscontro di carcinoma tiroideo, captazione del ¹⁸F-FDG all'esame PET; mutazione del proto-oncogene RET associata a MEN2/FMTC, calcitonina >100 pg/ml. MEN, neoplasia endocrina multipla; FMTC, carcinoma midollare della tiroide familiare.
- b. Caratteristiche sospette: micro-calcificazioni; ipoecogenicità; aumentata vascolarizzazione nodulare; margini infiltranti; nodulo più alto che largo nella finestra trasversale.
- c. La citologia su FNA può essere ottenuta dal linfonodo anormale invece che dal nodulo tiroideo.
- d. Il monitoraggio ecografico senza biopsia può essere un'alternativa accettabile.
- e. A meno che non indicato come modalità terapeutica.

Possibilità terapeutiche

La chirurgia rappresenta generalmente l'approccio fondamentale per l'eradicazione della neoplasia e può consistere o in una lobectomia comprendente anche l'istmo, o in una tiroidectomia totale. La tiroidectomia totale è indicata per i pazienti con tumori più grandi di 4 cm, diffusione extra-tiroidea, metastasi a distanza o regionali, alto grado istologico ed età minore di 16 anni o maggiore di 45.

³ "Linee guida dell'American Thyroid Association sulla gestione dei pazienti con noduli tiroidei e carcinoma differenziato della tiroide" David S. Cooper, Gerard M. Doherty, Bryan R. Haugen, et al.

Gli argomenti a favore della tiroidectomia totale sono:

- nell'80-85% dei casi è un tumore multifocale;
- nel 5-24% dei casi si ha recidiva controlaterale;
- il 40-50% dei decessi è legato alla malattia in sede cervicale;
- la tiroidectomia totale inoltre consente l'impiego del radioiodio per l'ablazione del tessuto tiroideo residuo e l'esecuzione della scintigrafia corporea totale post-terapia per l'individuazione di residui o metastasi;
- dopo il trattamento con radioiodio e l'ablazione dei residui tiroidei, il dosaggio della tireoglobulina (Tg) circolante è un marker tumorale sensibile e specifico.

Le principali complicanze derivanti dalla chirurgia sono l'ipoparatiroidismo iatrogeno per asportazione involontaria delle paratiroidi e la disfonia per eventuale lesione a carico del nervo ricorrente.

Alla chirurgia può far seguito la terapia radiometabolica con ^{131}I somministrato a dosi ablative per distruggere l'eventuale tessuto tiroideo residuo o le possibili localizzazioni metastatiche.

Pazienti che devono essere sottoposti a terapia ablativa con radioiodio o a test diagnostici possono essere preparati con una sospensione della terapia con LT4 di almeno 4-6 settimane, con determinazione del TSH sierico per stabilire i tempi per il test o la terapia (TSH >40 mU/L); in alternativa per molti pazienti, inclusi coloro i quali non sono in grado di tollerare l'ipotiroidismo o incapaci di raggiungere elevati livelli di TSH, l'ablazione del residuo può essere effettuata con rhTSH. Il ^{131}I viene così captato selettivamente dal tessuto tiroideo con pochi effetti collaterali, come ad esempio la xerostomia per coinvolgimento delle ghiandole salivari.

A seguito della chirurgia e della radioiodioterapia si instaura una terapia con levotiroxina a dosaggi che sopprimano la secrezione di TSH, al fine di contrastare l'eventuale proliferazione di cellule neoplastiche residue.

Nei pazienti così trattati, con ecografia del collo negativa e livelli indosabili di Tg con TSH soppresso nel corso del primo anno, il follow-up prevede il dosaggio della Tg sierica dopo sospensione della terapia con LT4 o dopo stimolo con rhTSH entro 12 mesi dall'ablazione del residuo per verificare l'assenza di malattia.

La scintigrafia diagnostica dopo sospensione della terapia con ormoni tiroidei o dopo stimolo con rhTSH a distanza di 6-12 mesi dall'ablazione potrebbe essere utile nel follow-up di pazienti con rischio di persistenza di malattia alto o intermedio ma deve essere effettuata con ^{123}I o basse attività di ^{131}I .²

Negli ultimi anni, per le forme di carcinoma tiroideo aggressivo non rispondente alle terapie convenzionali, a seguito delle scoperte nel campo della biologia molecolare, sono attualmente disponibili alcuni farmaci cosiddetti "a target molecolare" come ad esempio il Sorafenib, il Selumetinib, il Sunitinib e altri.

Patogenesi

Il carcinoma papillare della tiroide (PTC) si correla, nella gran parte dei casi, a un'attivazione patologica della via della MAP-chinasi che può avvenire a seguito o di un riarrangiamento di RET o NTRK1 (Neurotrophic Tyrosine Kinase Receptor 1), entrambi codificanti per le tirosin-chinasi recettoriali transmembrana, o di attivazioni di mutazioni puntiformi in BRAF. Nel PTC si riscontra il riarrangiamento RET/PTC nel 30-40% dei casi, mutazioni a carico di RAS in circa il 10% e mutazioni di BRAF (di solito una variazione valinato-glutammato sul

codone 600: BRAF^{V600E}) in circa il 40-50% dei casi, specie nei carcinomi papillari tiroidei dedifferenziati (DePTC),^{3,4} tali alterazioni geniche sono mutualmente esclusive.

Nel carcinoma follicolare della tiroide (FTC) la mutazione a carico di RAS è presente nel 40-50% dei tumori⁵ e può essere correlato con una dedifferenziazione tumorale ed una prognosi meno favorevole.⁶

Il riarrangiamento PAX8-PPAR γ (PAX8-peroxisome proliferator-activated receptor γ) si riscontra fino al 35% degli FTC, con una minor prevalenza nei carcinoma a cellule di Hurtle;⁷ i tumori presentanti questa mutazione insorgono prevalentemente in età giovanile, sono di dimensioni inferiori, ma si associano ad un più frequente coinvolgimento vascolare.

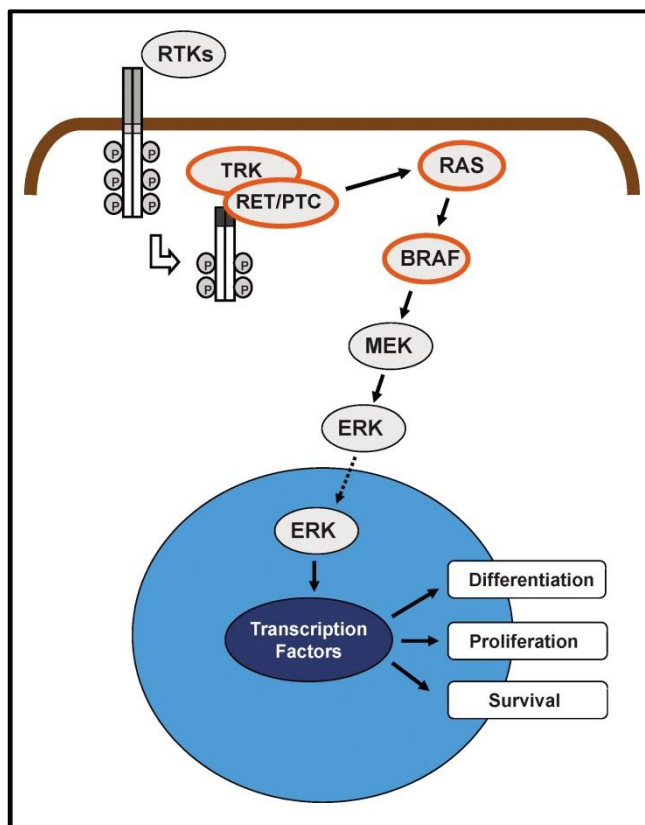


Figura 3: Tutte le più comuni mutazioni trovate nei carcinoma papillari tiroidei sono capaci di attivare la MAPK pathway. Questa pathway serve a propagare i segnali dai recettori tirosin-chinasici di membrana (RTKs) al nucleo, attraverso una serie di proteine adattatrici e chinasi intracitoplasmatiche, comprendenti RAS, RAF, MEK ed ERK. L'ERK attivato trasloca al nucleo e regola la trascrizione dei geni coinvolti nei processi di differenziazione cellulare, proliferazione e sopravvivenza.⁴

⁴ "Molecular Diagnostics of Thyroid Tumors" Yuri E. Nikiforov.

Tirosin-chinasi

Le tirosin-chinasi sono proteine fortemente coinvolte nel processo oncogenetico mediante un'aberrante espressione dei loro recettori e una diminuita espressione degli enzimi ad azione modulante, ovvero le fosfatasi. Questi due meccanismi svolgono un ruolo chiave nell'oncogenesi e nei meccanismi di resistenza ai farmaci.^{8,9}

La via RAS/RAF/MEK, che media la risposta cellulare in risposta agli stimoli mitogeni, la MAPK e il MEK/ERK, insieme alla PI3K/AKT (target della rapamicina mTOR), sono fondamentali per la sopravvivenza e la regolazione della proliferazione cellulare. Il RAS è un elemento fondamentale della cascata derivante dall'attivazione dell'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), che frequentemente è iperespresso, a seguito di mutazioni, in numerose neoplasie umane. Il RAF, una volta mutato, attiva l'ERK/MAPK; l'attivazione mutazionale di ERK induce una up-regulation dell'EGFR, instaurando perciò un circolo autocrino, che si autosostiene, cruciale nella crescita tumorale.¹⁰

Altri elementi fondamentali ai fini della crescita e della metastatizzazione tumorale sono il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) e l'EGF, ligando dell'EGFR che promuove l'espressione del VEGF,^{11,12} il quale è prodotto dalle cellule tumorali in risposta ad esempio allo stimolo ipossico ed agisce sulle cellule endoteliali favorendone la migrazione e l'angiogenesi.

RET e BRAF

Il gene RET è localizzato sul cromosoma 10q11.2 e codifica per un recettore transmembrana,¹³ per i ligandi o molecole di segnale extracellulare appartenenti alla famiglia dei fattori neurotrofici delle cellule gliali. Dal naturale splicing di questo gene originano tre

differenti isoforme della proteina RET: RET51, RET43 e RET9 contenenti rispettivamente 51, 43 e 9 aminoacidi nella porzione C-terminale.

L'attivazione del RET innesca il processo di autofosforilazione dei residui tirosinici che fungono da substrato per proteine coinvolte nelle pathway di trasduzione del segnale (mitogen activated protein kinase [MAPK], fosfatidilinositolo 3 chinasi [PI3K]), importanti nella regolazione dei processi di crescita cellulare.

Nel PTC si reperta il riarrangiamento RET/PTC in cui la porzione 3' del gene RET è fusa con la porzione 5' di diversi geni non correlati; ne sono stati riscontrati almeno 13 tipi differenti, ma i più comuni sono RET/PTC1 e RET/PTC3.¹⁴ I pazienti con un carcinoma papillare associato a quest'alterazione genica presentano generalmente un'età d'insorgenza più bassa, un'aumentata tendenza alla metastatizzazione linfonodale, ma una prognosi più favorevole.¹⁵

Il RET/PTC1 generalmente si associa a tumori con istologia classica, mentre il RET/PTC3 è più frequente nella variante solida.¹⁶

La mutazione a carico di BRAF si riscontra prevalentemente nella variante classica del PTC e nella variante a cellule alte,¹⁷ associandosi a una maggiore aggressività locale, come testimoniato anche da un'aumentata captazione del ¹⁸F-FDG alla PET, ad uno stadio più avanzato al momento della diagnosi e ad un'aumentata tendenza alla metastatizzazione a distanza oltre che linfonodale.

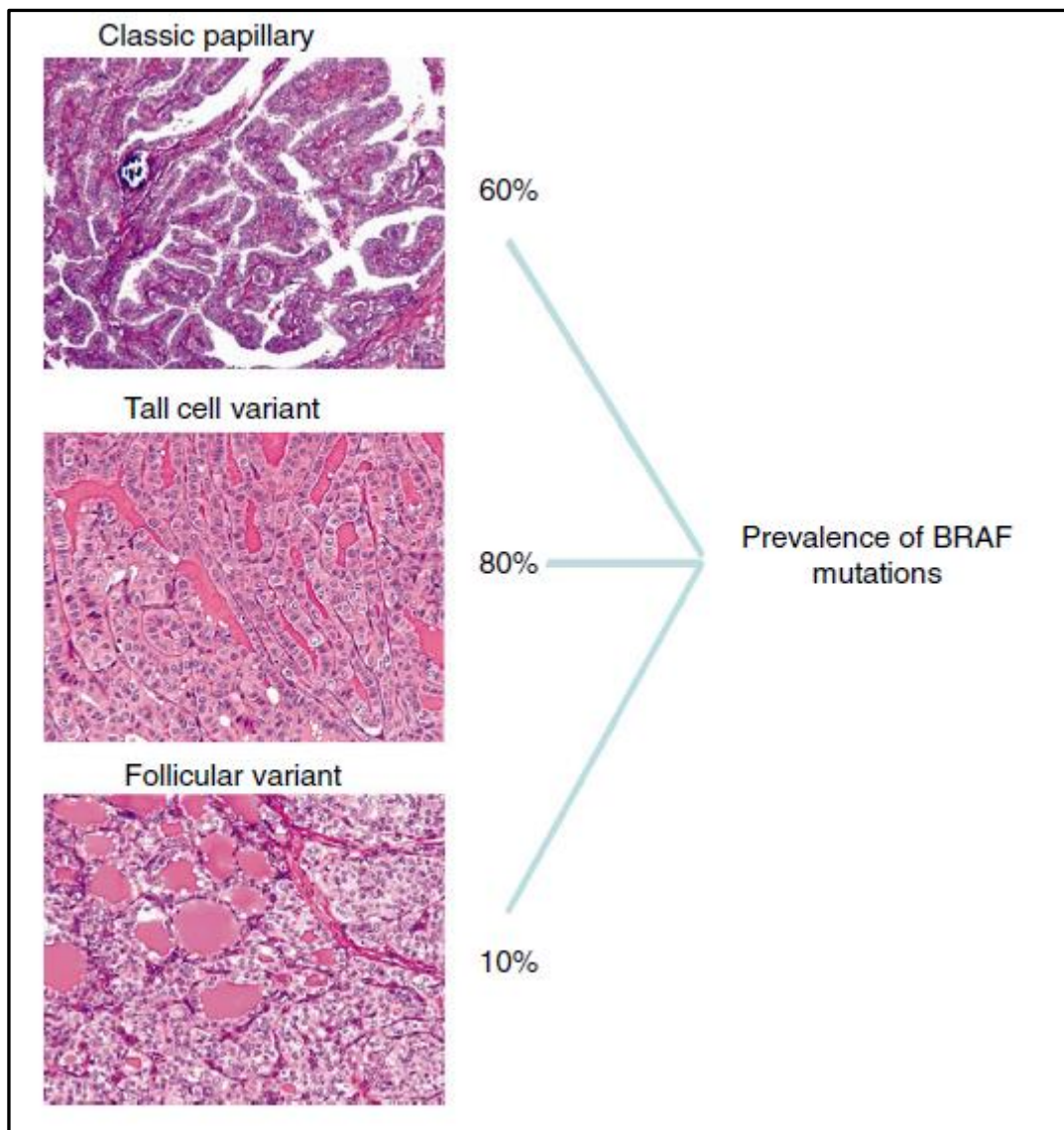


Figura 4: Prevalenza delle mutazioni BRAF in differenti varianti istologiche di carcinoma papillare della tiroide.⁵

Il BRAF^{V600E} aumenta l'attività chinastica, con conseguente attivazione della pathway MEK/ERK/MAPK e proliferazione incontrollata delle cellule tumorali; altre alterazioni geniche a carico delle sopradette vie di trasduzione di segnale sembrano essere coinvolte nella genesi del carcinoma anaplastico e nel carcinoma follicolare.

⁵ "Molecular Analysis of Thyroid Tumors" Feriyl Bhajjee, Yuri E. Nikiforov

Rilevante è la diminuita capacità da parte del tumore di captare il radioiodio, probabilmente dovuta ad una disregolazione della funzione e dell'espressione del symporter Na^+/I^- (NIS) e della tireoperossidasi,¹⁸ che è associata ad una maggiore aggressività del tumore.

RAS

Il RAS ("Rat Sarcoma") appartiene alla famiglia delle proteine G che attivano le cascate MAPK e PI3/AKT; le mutazioni puntiformi dei geni RAS determinano l'attivazione costitutiva di queste pathway. Le mutazioni riscontrate più comunemente per l'N-RAS e l'H-RAS sono a carico del codone 61, mentre per quanto riguarda il K-RAS i codoni maggiormente coinvolti sono il 12 ed 13.¹⁹ Le mutazioni dei geni RAS non sono caratteristiche di un particolare sottotipo istologico di tumore della tiroide: si ritrovano, infatti, nella metà dei FTC ed in una percentuale minore nei PTC (10-15%), in particolar modo nella variante follicolare. Mutazioni di questi geni si trovano anche in circa il 35% dei tumori della tiroide scarsamente differenziati ed in circa il 50% dei tumori anaplastici, dove sembrano correlarsi ad un comportamento più aggressivo e prognosi sfavorevole. Mutazioni puntiformi dei geni RAS sono state riscontrate anche in una percentuale variabile degli adenomi follicolari (20-40%), tuttavia non è ancora chiaro se queste lesioni possano rappresentare una fase pre-invasiva dei carcinomi follicolari.²⁰

Inibitori dei recettori tirosin-chinasici

Gli inibitori delle tirosin chinasi (TKI) rientrano nel gruppo dei farmaci usati nel trattamento delle patologie neoplastiche noti come “farmaci a target molecolare”. Sono delle piccole molecole organiche che bloccano le pathway oncogeniche dipendenti dalle tirosin-chinasi andandosi a legare nei siti catalizzatori delle unità recettoriali, ostacolando il legame dell’ATP,²¹ inibendo quindi l’autofosforilazione, l’attivazione delle tirosin-chinasi e, conseguentemente, l’attivazione di ulteriori vie intracellulari di trasduzione del segnale.²²

Alcuni di questi farmaci sono già stati approvati dalla Food and Drugs Administration per il trattamento di neoplasie non responsive ai comuni trattamenti chemioterapici, come ad esempio il Sunitinib per il carcinoma a cellule renali, i GIST (GastroIntestinal Stromal Tumors), e i tumori neuroendocini pancreatici. Per quanto concerne il trattamento dei carcinomi della tiroide al momento esiste indicazione alla terapia con Vandetanib e Cabozantinib, limitatamente ai soli carcinomi midollari.

Negli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi al fine di valutare l’efficacia di queste terapie nel trattamento delle neoplasie tiroidee, con particolare attenzione alla capacità di re-indurre la captazione dello iodio nelle forme dedifferenziate.

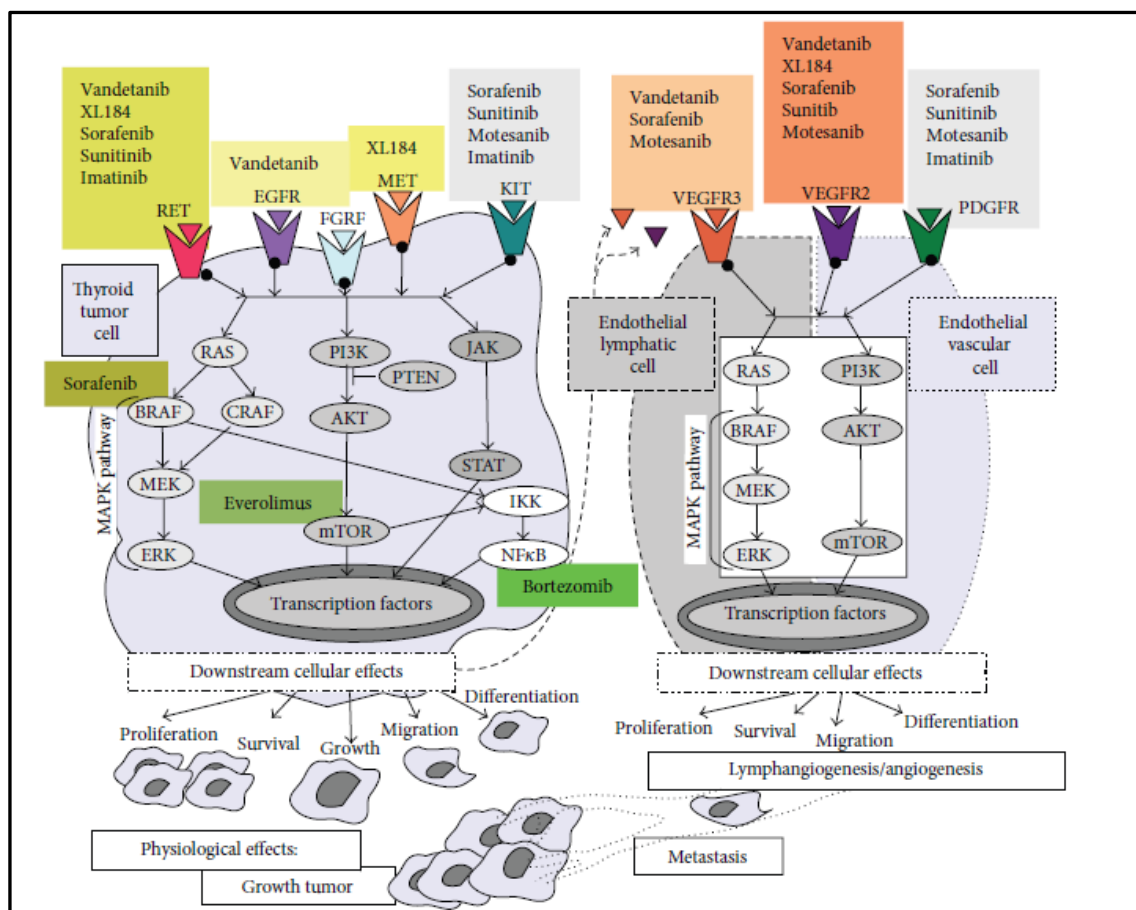


Figura 5: Questa figura mostra i recettori tirosin-chinasici, come RET, EGFR, FGFR, MET, KIT, VEGFR, PDGFR, e alcuni dei loro effettori a valle. Le due più importanti pathway oncogeniche di segnale sono PI3K/AKT/mTOR e Ras/Raf/MEK/ERK. Sono inoltre mostrati i principali inibitori delle tirosin-chinasi.⁶

Vandetanib

Il ZD6474, anche noto come Vandetanib, è un TKI attivo per via orale, che possiede un'importante capacità di inibire il VEGFR-2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2) e 3, bloccare la tirosin-chinasi RET e, ad alte concentrazioni, l'EGFR.^{23,24} La sua efficacia è stata dimostrata in diversi studi in vitro, nel corso dei quali si è constatata la capacità di bloccare la fosforilazione e la via di segnale legate a RET/PTC e a RET, le mutazioni più comuni nelle MEN2A e MEN2B, di arrestare la crescita tumorale in cellule umane di carcinoma papillare presentanti RET/PTC1, e di ostacolare la crescita tumorale in topi nudi

⁶ "Cellular Signaling Pathway Alterations and Potential Targeted Therapies for Medullary Thyroid Carcinoma"
Serena Giunti, Alessandro Antonelli, Andrea Amorosi, e Libero Santaripa.

dopo l'inoculazione di fibroblasti RET/PTC3 trasformati o carcinomi midollari positivi per la mutazione a carico di RET.²⁵

Sunitinib

Il Sunitinib, già approvato dalla FDA per il trattamento di diversi tumori in stadio avanzato, è un inibitore di tutti e tre i recettori del VEGF, di RET, e dei sottotipi 1 e 3 di RET/PTC.²⁶ Ha dimostrato la sua efficacia in una serie di studi di clinici di fase 2 per DTC (Differentiated Thyroid Cancer) e MTC (Midollary Thyroid Cancer) non resecabili e non iodio-responsivi. Risposte parziali prolungate sono state riscontrate in 3 pazienti, con PTC, FTC e MTC, dopo un trattamento con 50 mg di Sunitinib per cicli di 28 giorni seguiti da 14 giorni di astensione.^{27,28} I risultati preliminari di uno studio di fase 2 condotto su pazienti affetti da DTC e MTC in progressione hanno riportato una risposta parziale (vedi criteri RECIST, tabella 2) nel 13% dei 31 pazienti con DTC e una stabilizzazione di malattia nel 68% dei pazienti con DTC, nell'83% con MTC.²⁹

Tabella 2: Criteri RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors).

- Risposta completa: scomparsa di tutte le lesioni target; tutti i linfonodi patologici devono avere una riduzione dell'asse corta fino a <10 mm;
- Risposta parziale: diminuzione di almeno il 30% della somma dei diametri delle lesioni target;
- Progressione di malattia: incremento di almeno il 20% della somma dei diametri delle lesioni target, ed almeno di 5 mm; l'eventuale comparsa di una nuova lesione viene anch'essa ritenuta come progressione di malattia;
- Stabilità di malattia: variazione della somma dei diametri compresa tra >20% e <30%.

Da un altro studio in cui si è somministrata una dose di 37,5 mg di Sunitinib in maniera continua, se ne è dimostrata l'efficacia in 29 pazienti alla valutazione con ^{18}F -FDG-PET: il 7% ha avuto una risposta completa per almeno 9 mesi, il 25% una risposta parziale, il 48% una stabilizzazione di malattia.³⁰

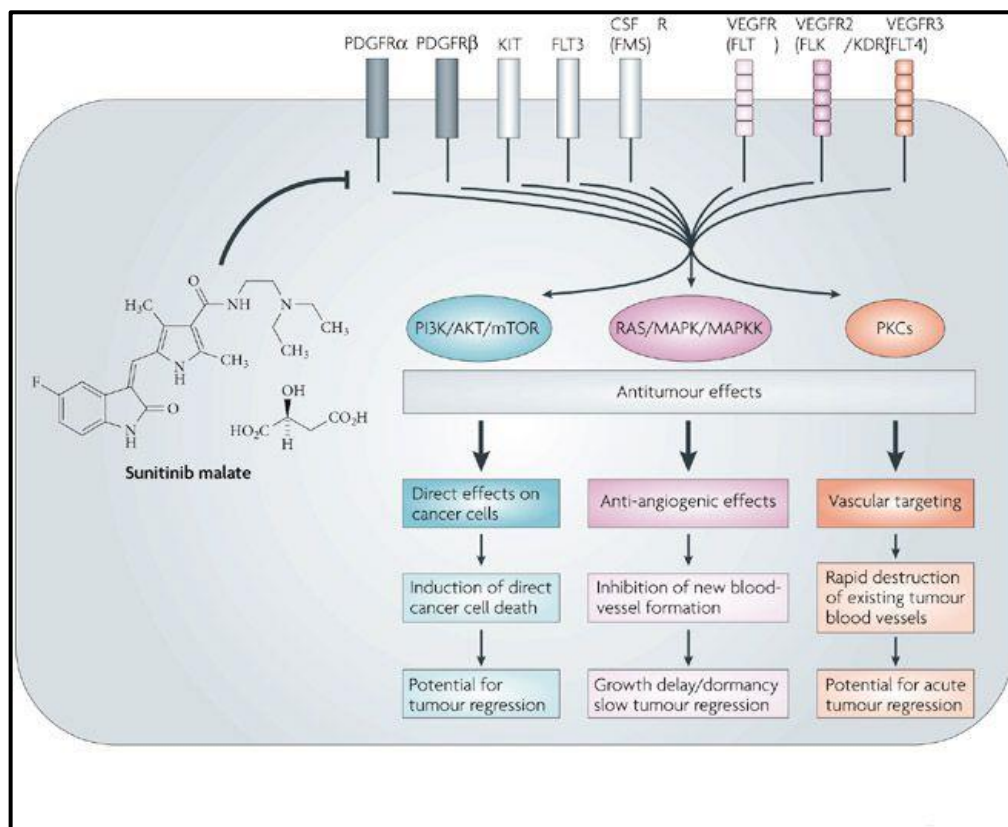


Figura 6: Questa immagine mostra i siti d'azione del Sunitinib ed i conseguenti effetti antitumorali.⁷

Motesanib

Il Motesanib è un TKI che ha per bersaglio tutti e tre i recettori del VEGF.³¹

A seguito dei risultati emersi da uno studio di fase 1 svolto su diverse neoplasie solide, sono stati condotti degli studi di fase 2 per valutarne l'efficacia contro le neoplasie tiroidee ad un dosaggio di 125 mg al giorno. Dei 93 pazienti affetti da DTC, solo un terzo ha raggiunto le 48

⁷ "Sunitinib maleate" Michael Atkins, Carole A. Jones e Peter Kirkpatrick.

settimane di terapia: il 14% ha avuto una risposta parziale e un altro 35% una stabilità di malattia per almeno 24 settimane. Sebbene il farmaco non fosse efficace su BRAF, i pazienti che presentavano tale mutazione hanno ugualmente beneficiato della terapia, probabilmente per la stretta correlazione di questi tumori con l'angiogenesi VEGF-mediata.^{32,33} Un effetto indesiderato riscontrato è stata la necessità di incrementare del 30% il dosaggio di levotiroxina per mantenere la soppressione del TSH.³⁴

Axitinib

L'Axitinib è un inibitore dei recettori del VEGF ma non della RET chinasi.³⁵ In uno studio di fase 2 condotto su 60 pazienti, di cui il 50% con PTC, il 25% con FTC, e il 18% con MTC, vi è stata una risposta parziale nel 30% dei pazienti, specialmente in coloro che avevano un istotipo DTC e una mediana di sopravvivenza libera da malattia di 18 mesi.³⁶ Al momento sono condotti studi di fase 2 sull'efficacia dell'Axitinib nel trattamento di pazienti con DTC metastatici non responsivi alla doxorubicina o di coloro per cui tale trattamento è controindicato.

Pazopanib

Il Pazopanib è un inibitore di tutti i recettori del VEGF e del PDGF. In uno studio di fase 2 condotto su 37 pazienti con DTC rapidamente progressivo, in cui è stato somministrato il Pazopanib a un dosaggio giornaliero di 800 mg, il 32% dei pazienti ha avuto una risposta parziale e si è avuta una sopravvivenza libera da progressione per 6 mesi nel 71%.³⁷

Imatinib

L'Imatinib è un inibitore del BCR-ABL, del recettore β di PDGF, del c-KIT, ed inibisce l'autofosforilazione del RET e la crescita cellulare mediata da esso mediata.^{38,39,40} Sono stati condotti 2 piccoli studi di fase 2, su un totale di 24 pazienti con MTC metastatico ad un dosaggio di 600 mg al giorno, dai quali non è emersa una significativa risposta antitumorale.^{41,42}

Gefitinib

Il Gefitinib è un inibitore dell'EGFR, approvato dalla FDA per il trattamento del NSCLC (Non-Small Cell Lung Cancer) metastatico presentante una mutazione attivante l'EGFR, di cui è stata recentemente vagliata l'efficacia nel trattamento dei carcinomi papillari e anaplastici della tiroide, presentanti anch'essi una significativa via di segnale promossa dal suddetto recettore. È stato pertanto condotto uno studio di fase 2 al dosaggio di 250 mg/die su 27 pazienti, di cui il 41% aveva un PTC, il 22% un FTC, il 19% un carcinoma anaplastico e il 15% un MTC. Non sono state riscontrate risposte complete o parziali in 25 pazienti, sebbene in 8 vi sia stata una diminuzione di volume non valutabile come risposta parziale e un paziente con carcinoma anaplastico abbia avuto una stabilizzazione della malattia per 12 mesi.⁴³

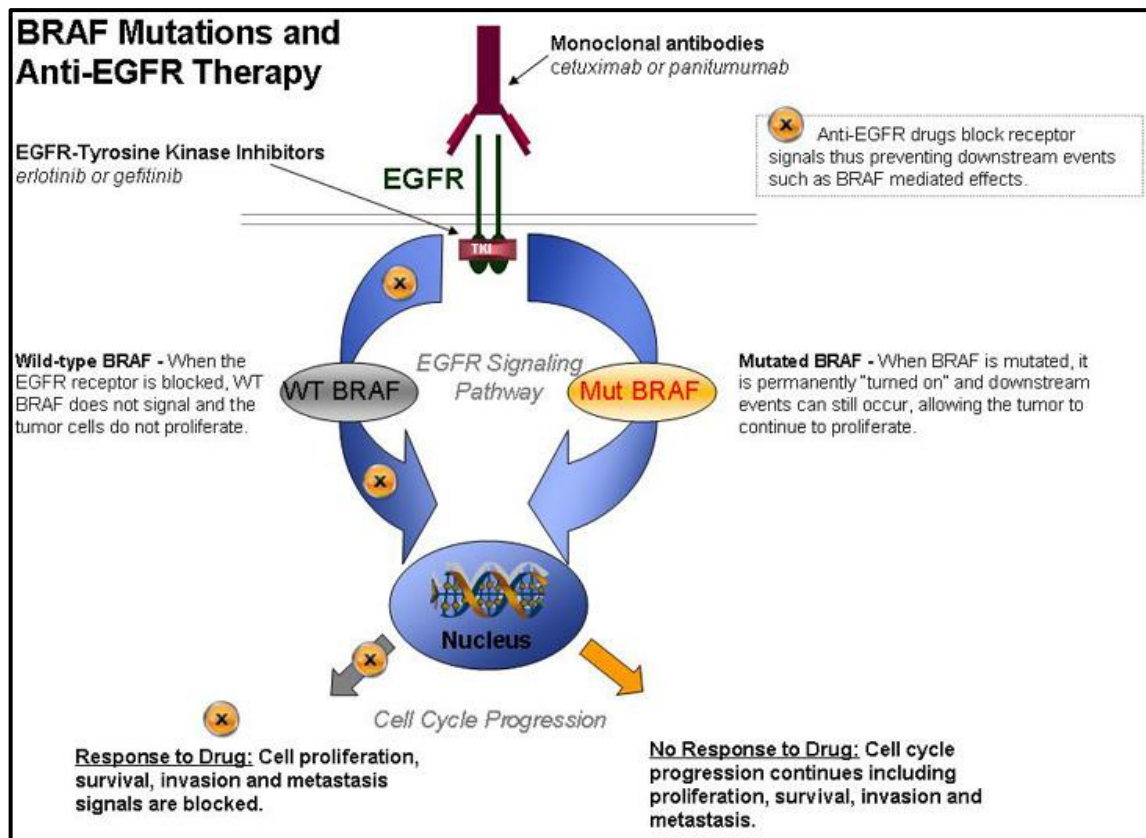


Figura 7: Questa immagine mostra l'azione del Gefitinib in cellule tumorali presentanti una mutazione a carico di BRAF.⁸

Selumetinib

Il Selumetinib è un inibitore selettivo di MEK 1 e MEK 2 (MAPK kinase),⁴⁴ sul quale, tra Agosto 2010 e Dicembre 2011, è stato condotto uno studio di fase 2 su 20 pazienti, il 25% dei quali aveva un PTC, il 40% una variante a cellule alte del PTC, e il 35% un carcinoma scarsamente differenziato, per valutarne l'efficacia soprattutto in merito alla riacquisizione della capacità di captare iodio. Nove pazienti presentavano la mutazione BRAF^{V600E}, 5 una mutazione al codone 61 di NRAS, 3 il riarrangiamento RET/PTC, e 3 erano wild-type. La responsività alla terapia, e quindi la conseguente positività a continuare il trattamento con il radioiodio, è stata valutata in relazione a due misurazioni della capacità delle lesioni di captare ¹²³I alla PET prima e dopo l'assunzione del farmaco. Tutti e 5 i pazienti che

⁸ <http://www.colorectal-cancer.ca/en/treating-cancer/treatment-cancer/>

presentavano la mutazione su N-RAS, che oltretutto presentavano carcinomi scarsamente differenziati, sono risultati positivi; 4 dei 9 pazienti con BRAF^{V600E} hanno avuto un aumento della capacità captante ma solo 1 ha superato il valore soglia di 2000 cGy con 300 mCi di radioiodio. Infine, solo un paziente con RET/PTC e un paziente wild-type sono risultati idonei.⁴⁵

PD98059

Il PD98059 è un inibitore di MEK, studiato basandosi sulle conoscenze riguardo l'alterata capacità di captare iodio da parte del tessuto tumorale tiroideo. Nei tumori più dedifferenziati si ha una ridotta espressione a livello della membrana cellulare del symporter Na⁺/I⁻ (NIS) e conseguentemente una riduzione nell'uptake del radioiodio NIS mediato (RAIU).^{46,47,48} L'attività di concentrazione dello iodio mediata dal NIS è la base molecolare per la somministrazione del radioiodio nella fase post-chirurgica, e al contempo per un corretto funzionamento di questa è necessaria l'azione della Na⁺/K⁺-ATPasi, che genera un gradiente del Na⁺.

È stato riscontrato che il riarrangiamento RET/PTC1 induce una ridotta espressione del NIS e una ridotta attività nel concentrare radioiodio nei tumori tiroidei dei topi transgenici^{49,50,51} come nelle colture cellulari tiroidee.^{52,53} Inoltre è stato dimostrato che gli inibitori della MAP/ERK chinasi (MEK) (MAPK chinasi) ripristinano i livelli del mRNA di NIS nelle cellule PCC13 che presentano RET/PTC.

Dallo studio condotto sul PD98059 è emerso che esso induce un aumento dell'espressione del NIS a livello delle cellule tiroidee, pur diminuendo tuttavia l'attività RAIU mediata da NIS endogeni ed esogeni. Il PD98059 non induce una diminuzione dell'affinità di legame del NIS per lo I⁻, bensì una diminuzione dell'uptake massimale, inoltre non altera l'efflusso di I⁻, ma

riduce l'attività della Na^+/K^+ ATPasi, ed è quest'ultima azione che può essere correlata con la diminuita attività RAIU.^{54,55}

Inibitori dell'istone deacetilasi

Basandosi sugli studi dai quali si evinceva la capacità degli inibitori dell'istone deacetilasi (HDAC) di indurre l'espressione di NIS nelle cellule tumorali tiroidee,^{56, 57} è stato recentemente dimostrato che la combinazione dell'inibitore dell'HDAC (SAHA) con un inibitore della MAP chinasi e della via PI3k/Akt può indurre una robusta e sinergica espressione del NIS e favorire la captazione del radioiodio.⁵⁸

Sorafenib

Il Sorafenib è un TKI con molteplici bersagli, il cui impiego è stato approvato nel trattamento del carcinoma a cellule renali avanzato e nel carcinoma epatocellulare in fase avanzata.

La sua azione inibente è stata dimostrata nei riguardi del VEGFR-2 e VEGFR-3, c-Kit, PDGFR (Platelet Derived growth Factor Receptor), RET/PTC, e Raf chinasi, in particolare C-Raf e B-Raf, ed inoltre è l'unico TKI in grado di agire sulla pathway Raf/Mek/Erk (MAPK pathway); infine si è riscontrata la capacità di indurre il processo apoptotico mediante la down-regulation di Mcl-1 in diversi tumori. Recentemente, Matsuse e al. hanno verificato con esito positivo l'efficacia del Sorafenib in neoplasie presentanti una variante della mutazione BRAF, specificatamente la variante V600delinsYM, che conferisce un'elevata attività chinastica alle proteine BRAF, determinante un'attivazione costitutiva della via MAPK.⁵⁹

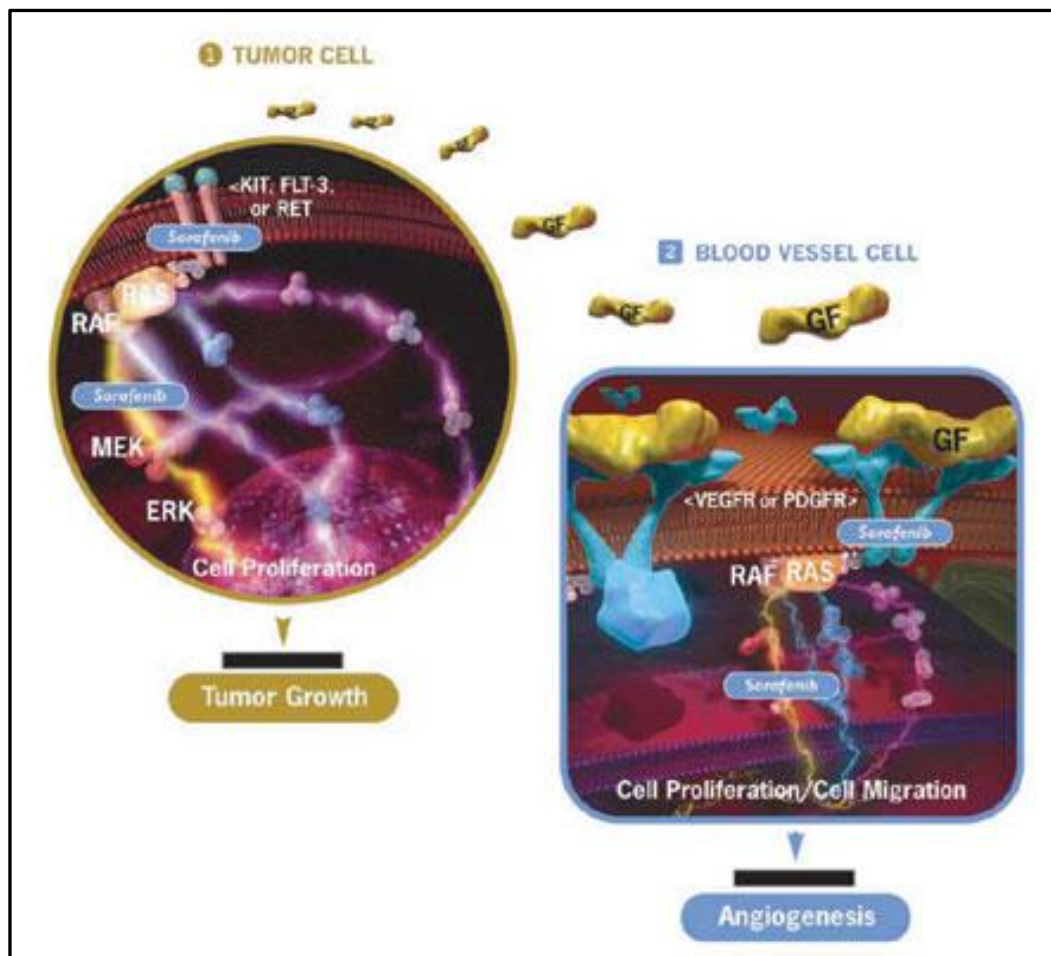


Figura 8: Il Sorafenib è il primo farmaco ad avere come target le pathway coinvolte sia nella proliferazione cellulare che nel processo angiogenetico.⁹

Il Sorafenib ha una biodisponibilità del 38-49% dopo somministrazione orale, e raggiunge il picco massimo di concentrazione nel plasma dopo circa 3 ore. Si è riscontrato che l'AUC aumenta in minor proporzione a dosaggi superiori a 400 mg somministrato 2 volte al giorno.

Nel corso di diversi studi clinici è stata verificata l'efficacia e l'eventuale interazione del Sorafenib con altri agenti anti-neoplastici: in particolar modo è stato riscontrato un aumento del 47% dell'AUC della doxorubicina se somministrati insieme, a dispetto di un mancato aumento della tossicità ad essa legata.⁶⁰

⁹ <http://www.readcube.com/articles/10.1038/nbt0605-639?locale=en>

L'associazione con altri farmaci a target molecolare ha mostrato, nel corso di uno studio di fase 2, una particolare efficacia dell'associazione con Erlotinib. Tale combinazione ha determinato un aumento della sopravvivenza libera da progressione e della sopravvivenza in assoluto nei pazienti EGFR wild-type e EGFR FISH negativi con NSCLC avanzato, rispetto all'Erlotinib da solo.⁶¹

Le più comuni reazioni avverse riscontrate sono state la diarrea, il rash, l'alopecia e la sindrome mano-piede, mentre le più importanti reazioni avverse sono state l'infarto del miocardio, il diabete, la perforazione gastrointestinale, l'epatite da farmaci, emorragie e l'ipertensione arteriosa o crisi ipertensive.



Figura 9: Sindrome mano-piede, possibile effetto collaterale della terapia con Sorafenib.¹⁰

¹⁰ <http://www.lindiskin.com/hand-foot-syndrome/>

Studi clinici sul Sorafenib nel trattamento del carcinoma della tiroide

Dopo alcuni studi dimostranti la capacità di inibire i RET mutati, BRAF^{V600E}, l'angiogenesi e la crescita di carcinomi tiroidei anaplastici ortotopici impiantati in topi nudi, alcuni trial clinici hanno dimostrato l'efficacia del Sorafenib nei carcinomi tiroidei avanzati.^{62,63}

Il primo trial (400 mg due volte al giorno) è stato condotto su 30 pazienti con DTC, ed è stata riscontrata una risposta parziale in 7 pazienti e una stabilizzazione di malattia in 16 pazienti.⁶⁴

Un secondo trial ha riportato una risposta parziale in 6 pazienti e una stabilizzazione di malattia per 6 mesi o più in 23 dei 41 pazienti con PTC, mentre è risultato inefficace negli 11 pazienti con FTC o DTC scarsamente differenziato e nei 4 con carcinoma anaplastico.⁶⁵

In un terzo trial, condotto su 32 pazienti con DTC, è stata riportata una risposta parziale in 8 pazienti e stabilità di malattia in 11.⁶⁶

La maggior efficacia del Sorafenib è stata dimostrata verso i pazienti con PTC, specialmente quelli presentanti una mutazione a carico di BRAF, piuttosto che in coloro che avevano un DTC scarsamente differenziato, ciononostante non ha mostrato effetti sull'uptake dello iodio.

Ahmed e al.⁶⁷ hanno valutato l'efficacia del Sorafenib in pazienti con MTC progressivi, localmente avanzati o metastatici, o con DTC non captanti lo iodio. Nei 34 pazienti reclutati (15 MTC e 19 DTC) e trattati con 400 mg due volte al giorno, dopo 6 mesi si è avuto una risposta radiologica generale nel 15%, arrivando al 25% a 12 mesi, e un altro 74% ha avuto una stabilizzazione della malattia; nello specifico rispettivamente il 18% e il 79% dei pazienti con DTC. È stata necessaria una diminuzione della dose nel 79% dei casi.

Recentemente Capdevilla e al.⁶⁸ hanno effettuato un'analisi retrospettiva su 34 pazienti con cancro tiroideo metastatico (16 pazienti con DTC, di cui 7 con un papillare e 9 con un

follicolare, 15 con MTC, e 3 con ATC) trattato con Sorafenib in sette centri spagnoli, con un dosaggio di 400 mg due volte al giorno. Il 32% dei pazienti ha avuto una risposta parziale e il 41% una stabilità di malattia oltre 6 mesi, dimostrando l'efficacia del farmaco nei confronti di tutti gli istotipi in questione, dato validato da una concomitante diminuzione dei rispettivi marker tumorali (Tg, calcitonina, CEA).

Gli ultimi studi, quali quello condotto da Schneider et al.⁶⁹ e quello condotto da Marotta et al.⁷⁰ hanno anch'essi dimostrato l'efficacia del farmaco, soprattutto a livello delle localizzazioni linfonodali e polmonari, comprovata dalla diminuzione dei livelli di Tg rispetto ai basali, dal riscontro radiologico e alla PET.

Cohen et al. hanno valutato l'efficacia di una terapia di combinazione con il withaferin contro linee cellulari di carcinoma anaplastico (SW1736) e papillare (BCPAP), mostrando un incremento dell'azione in vitro, con una significativa induzione dell'apoptosi, e con diminuzione degli effetti collaterali per il più basso dosaggio impiegato.⁷¹

È stato recentemente riscontrato che la via AKT/mTOR è particolarmente attiva nei carcinomi papillare tiroidei presentanti la mutazione BRAF^{V600E}. Questo potrebbe suggerire l'impiego di farmaci attivi sulla via di mTOR, come ad esempio la rapamicina, per il trattamento di alcuni carcinomi tiroidei.⁷²

In un altro studio condotto su 9 pazienti affetti da PTC con metastasi polmonari resistenti al trattamento con radioiodio, stavolta però con un dosaggio di 200 mg due volte al giorno, si è ottenuta una risposta parziale nel 33% dei pazienti, stabilità di malattia nel 44%, e nel 22% progressione di malattia, ed uno di loro è deceduto a 4 mesi dall'inizio del trattamento.⁷³

Caso clinico

Paziente donna di 76 anni affetta da *carcinoma tiroideo papillare scarsamente differenziato*, ipertensione arteriosa e dislipidemia.

Familiarità per diabete mellito tipo 2 e cerebropatia vascolare.

1980: per la comparsa di tumefazione in regione tiroidea, esegue accertamenti specifici (tra cui un agoaspirato di un nodulo tiroideo risultante negativo per cellule maligne) al termine dei quali viene posta diagnosi di *gozzo multinodulare*.

1997 Marzo: si sottopone a ecografia tiroidea che mostra multiple aree nodulari per cui si esegue scintigrafia tiroidea che mostra multiple aree nodulari fredde.

1997 Luglio: a seguito dell'insorgenza di disfagia, si ricovera presso la chirurgia di Napoli dove si sottopone a tiroidectomia subtotale con conservazione del polo superiore sx.

L'esame istologico del pezzo operatorio risulta negativo per neoplasia maligna.

2000 Maggio: per comparsa di piccola tumefazione a sede latero-cervicale sinistra con rialzo della Tg, si sottopone ad intervento di asportazione della tiroide residua. All'esame istologico si riscontra: *Carcinoma tiroideo poco differenziato a cellule chiare con infiltrazione capsulare e vascolare*.

2000 Luglio: si ricovera per la prima volta presso l'U.O. Medicina Generale 3 dell'Ospedale di Pisa dove esegue una scintigrafia corporea, la quale evidenzia aree di captazione a sede tiroidea e laterocervicale sinistra. La TC collo-mediastino del Luglio dello stesso anno documenta la "presenza di pacchetto linfonodale a sinistra della loggia tiroidea e linfadenopatia a sede laterocervicale, sottomandibolare e retroangolomandibolare; a carico

del segmento laterale del lobo medio del polmone destro si riscontrano micronodularità a caratteristiche aspecifiche di piccole dimensioni da sottoporre a follow-up”.

2000 Settembre: si sottopone a intervento di linfadenectomia laterocervicale e sovraclaveare sx.

2001 Gennaio: si ricovera nuovamente presso l'U.O. Medicina Generale 3 dell'Ospedale di Pisa per riscontro al controllo ecografico del collo. di recidiva locale a sinistra. Esegue quindi biopsia linfonodale su 16 linfonodi di cui 2 mostrano segni di *carcinoma solido-trabecolare poco differenziato della tiroide*, e si sottopone pertanto a terapia radiometabolica con ^{131}I (100 mCi). Da allora si è sottoposta a diversi cicli di trattamento con radioiodio per il riscontro di Tg persistentemente elevata.

2005 Settembre: nuovo ricovero presso l'U.O. Medicina Generale 3 dell'Ospedale di Pisa per rivalutazione dello stadio di malattia; al termine del quale viene dimessa con la seguente diagnosi “*malattia residua di carcinoma tiroideo sdifferenziato a cellule ossifile trattato chirurgicamente e con terapia radiometabolica con ^{131}I (dose tot 37 GBq), extrasistolia ventricolare, ipertensione arteriosa complicata da retinopatia ipertensiva, ateromasi aortica, steatosi epatica, ipercolesterolemia*”.

Terapia: Eutirox 150 µg (lun.-ven.) e 175 µg (sab. e dom.);

2005 Novembre: si sottopone a nuovo ciclo di radioterapia con ^{131}I (200 mCi).

2006 Settembre: nuovo ciclo di radioterapia con ^{131}I (150 mCi).

Negli anni successivi si osserva un progressivo incremento della tireoglobulina plasmatica e all'esame scintigrafico si riscontra la perdita della capacità di captare il radioiodio.

2009 Settembre: si riscontrano livelli di tireoglobulina molto elevati (1500 ng/mL) con TSH adeguatamente soppresso (0,015 μ U/mL); tale rilievo è stato confermato ad un successivo controllo. L'ecografia tiroidea conferma la presenza di "piccola area di circa 10x9 mm con calcificazioni a livello del letto tiroideo sinistro, con alcuni piccoli linfonodi ipoecogeni con centro ilare iperriflettente a tipo reattivo in sede latero-cervicale bilaterale". Una scintigrafia tiroidea eseguita nel Luglio 2007 ha segnalato che tale residuo risulta non captante lo iodio-radioattivo (figura 10).

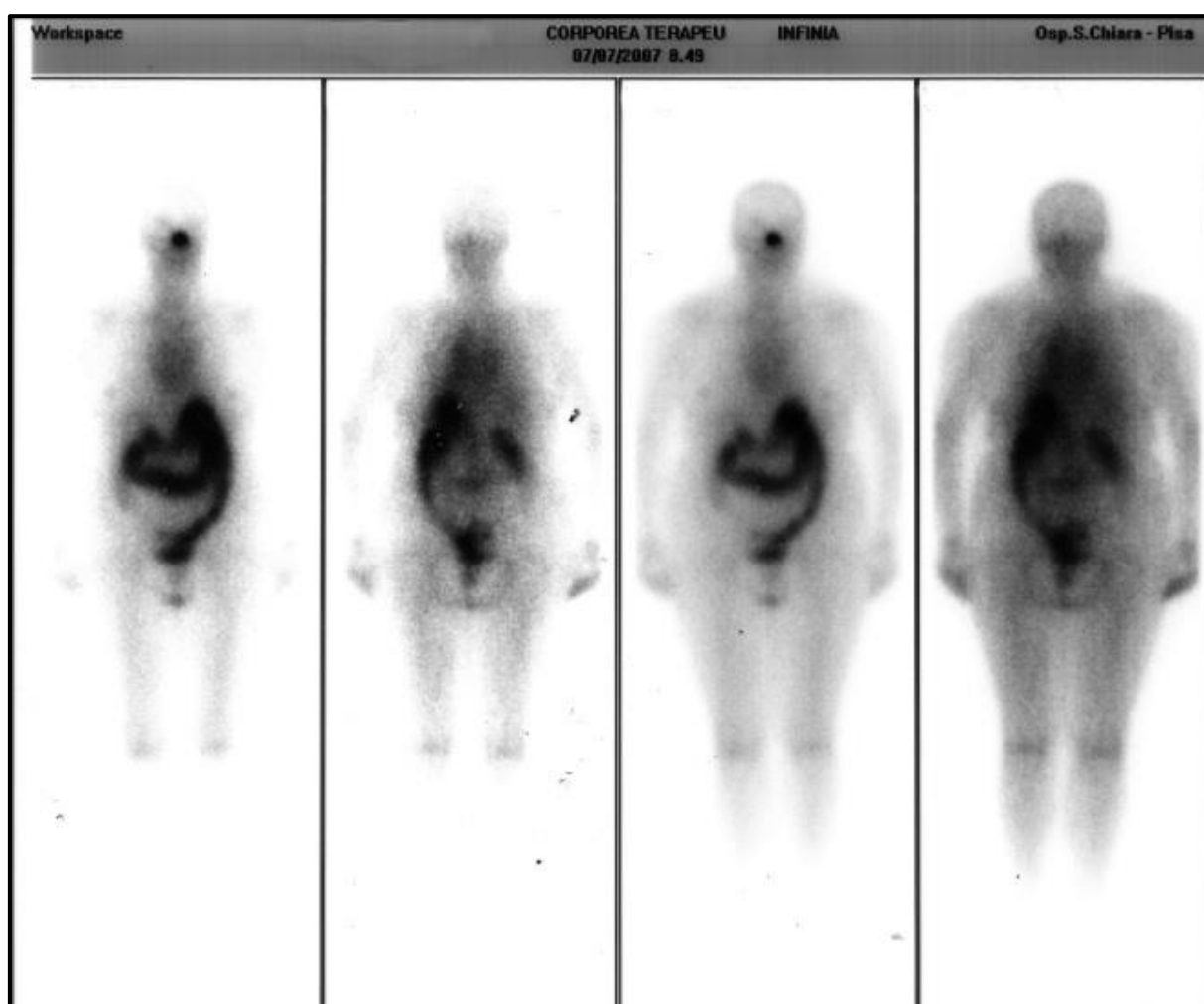


Figura 10: Scintigrafia mostrante la assenza di focolai patologici di captazione dello ^{123}I (Ioduria <200 μ g/24h).

Viene eseguita PET-TC Total-Body che evidenzia: “area di patologico metabolismo in corrispondenza di massa mediastinica para-cardiaca destra (diametro massimo 4,5 cm e SUV_{max} 10,5) ed area a patologico metabolismo a livello del margine antero-laterale della capsula glissoniana all’altezza dell’VIII arco costale destro (diametro massimo 1 cm e SUV_{max} 4,5); ulteriore reperto di ipermetabolismo (di non sicuro significato patologico) in corrispondenza della mucosa della grande curvatura gastrica”.

Terapia: Eutirox 175 µg/die (lun.-ven.) e 150 µg/die (sab. e dom.).

2010 Gennaio: si esegue esame TC torace senza mezzo di contrasto, seguito da una biopsia mediastinica TC guidata: in tale occasione si apprezza un discreto versamento pleurico destro esteso dall’apice alla base destra.

Dall’esame citologico dell’agoaspirato polmonare si evidenzia: *adenocarcinoma poco differenziato positivo alla tireoglobulina*, tale reperto risulta essere compatibile con *metastasi di carcinoma della tiroide*.

2010 Febbraio: ricovero presso l’U.O. di Pneumologia dell’Ospedale di Verona per dispnea ingravescente, a causa di un cospicuo versamento pleurico per il quale viene eseguita una toracentesi: La paziente viene dimessa con la diagnosi di *versamento pleurico recidivante verosimilmente metastatico*.

2010 Febbraio-Marzo: ricovero presso il reparto di Chirurgia toracica dell’Ospedale di Verona, dove viene sottoposta a pleuroscopia destra con talcaggio e biopsie pleuriche, con quadro intraoperatorio di *carcinosi pleurica*.

In seguito è stata indirizzata presso il gruppo oncologico di Verona, dove viene consigliata una nuova TC e l’esecuzione dei markers tumorali ai fini della valutazione della terapia da intraprendere.

2010 Marzo: il referto TC indica: “esiti di emitiroidectomia sinistra. Apprezzabili alcuni linfonodi aumentati di volume in sede laterocervicale di questo lato e sottomandibolare. Non segni di recidive locali. Sensibilmente ridotto il versamento pleurico allo sfondato costofrenico posteriore destro. Aumentate di volume le localizzazioni pleuriche a destra, la maggiore di 66x44 mm in sede paramediastinica anteriore addossata all’atrio destro. Altra lesione di 24x14 mm in doccia costo vertebrale, all’altezza del IV arco costale. Leggermente aumentate pure le localizzazioni parenchimali, la maggiore di 8 mm a ridosso della pala scissurale. Non linfadenopatie ilo mediastiniche.”.

2010 Maggio: si esegue PET-TC con la quale si evidenzia: “diffuso e disomogeneo ipermetabolismo glucidico a livello pleurico destro, prevalentemente nei settori basali. In tale contesto si rileva vasta area ipermetabolica in sede para-cardiaca destra (asse maggiore antero posteriore e trasverso 70x50 mm) e altra area, di circa 3 cm e di aspetto bilobato, adesa alla pleura all’altezza del IV arco costale posteriore. Nel contesto parenchimale polmonare di ambo i lati si visualizzano numerose piccole nodulazioni prevalentemente subcentimetriche significativamente ipermetaboliche. In sede sottomandibolare destra e in regione giugulare interna inferiore omolaterale sono visibili alcuni linfonodi debolmente ipermetabolici”. Tale reperto indica la progressione della malattia di base, dimostrata dalla presenza di lesioni ipermetaboliche, e quindi dedifferenziate, in sede pleurica destra e ad entrambi i polmoni; le lesioni linfonodali laterocervicali e sottomandibolari a destra verosimilmente presentano un minor grado di differenziazione.

Inizia terapia chemioterapica con Capecitabina.

2010 Luglio: viene proposta la terapia con inibitori delle tirosinchinasi.

	26/5/10	9/7/10	12/8/10
TSH	<0,004 µU/mL	0,142 µU/mL	0,107 µU/mL
FT4	1,5 ng/dL	1,34 ng/dL	1,01 ng/dL
FT3	4,7 pg/mL	2,53 pg/mL	2,32 pg/mL
Tg	13846 ng/mL	3101,4 ng/mL	4345,3 ng/mL
Ab anti-Tg	Neg	Neg	Neg

Tabella 3: raffigurazione della progressione di malattia, in relazione al dosaggio della Tireoglobulina.

2010 Settembre: l'esame PET-TC mostra: "persistenza delle lesioni pleuriche e polmonari precedentemente rilevate di cui solo alcune mostrano una riduzione dell'intensità di captazione mentre la maggior parte mostra un evidente aumento del metabolismo, compresa la massa principale in paracardiaca destra (a tale livello SUV max pari a +42% passando da 7 a 10). Si assiste oggi alla comparsa di nuove lesioni ipermetaboliche in corrispondenza di nuove nodulazioni polmonari a livello della pleura mediastinica". L'esame in questione indica pertanto una mancata risposta alla terapia con quadro in progressione.

2010 Novembre-Dicembre: ricovero presso l'U.O. di Medicina Generale 3 dell'Ospedale di Pisa. All'ecografia tiroidea effettuata durante il ricovero si reperta: "piccola area di 13x14 mm con calcificazioni a livello del letto tiroideo sinistro. Piccoli linfonodi ipoecogeni con centro ilare iperriflettente a tipo reattivo in sede laterocervicale"; tale reperto è compatibile con una recidiva locale.

Gli esami inerenti la funzionalità tiroidea (tabella 4) mostravano:

TSH	0,118 μ U/mL	v.n. 0,35-4,9
fT4	1,60 ng/dL	v.n. 0,8-1,8
fT3	2,59 pg/mL	v.n. 1,8-4,8
Ab anti-Tg	<6 U/mL	v.n. <30
Ab anti-TPO	<2,5U/mL	v.n. <10
Tireoglobulina	10833 ng/mL	v.n. < 3 dopo tiroidectomia
Ioduria	100 μ g/L	v.n. 100-250

Tabella 4

Si esegue anche una scintigrafia ossea total body con la quale si riscontra: “invariate sia l’area di iperfissazione del tracciante a carico dell’articolazione sterno-claveare destra che la disomogeneità di fissazione a carico del rachide cervico-dorsale. Ridotta captazione del tracciante a livello dell’emitorace superiore destro, da correlare presumibilmente con artefatto da attenuazione dovuta alla presenza di versamento pleurico”.

In virtù degli accertamenti effettuati al momento della dimissione viene allegata la documentazione relativa alla richiesta per il trattamento con inibitore delle tirosinchinasi (Sorafenib), e viene modificata la terapia:

Eutirox 150 μ g/die (lun.-sab.) e 100 μ g/die (dom.)

2011 Gennaio: viene eseguita una TC total body con e senza mezzo di contrasto che mostra: “invariati gli esiti di tiroidectomia, con verosimile linfadenectomia laterocervicale sinistra. Netto incremento in numero e dimensioni delle localizzazioni secondarie pleuriche a destra con comparsa di alcune anche in sede polmonare prevalenti a destra, la maggiore si situa nei settori mediali inferiori, addossata all’atrio destro da cui non è sicuramente clivabile di 76x54 mm. A sinistra si evidenziano almeno 5 piccole lesioni parenchimali ad entrambi i lobi, la maggiore di 1 cm circa. Comparsa di alcune adenopatie all’angolo cardioepatico a destra, la maggiore di 1 cm circa. Adenopatia di 12 mm rotondeggiante in para-aortica destra al passaggio toraco-addominale. Qualche piccola adenopatia in sovraclaveare a destra, una tenuemente iperdensa e rotondeggiante di 6 mm. Non versamenti pleurici, né versamento pericardico. Invariati i reperti Addominali”.

A fine Gennaio viene iniziata la terapia con Sorafenib (200mg 2cpx2).

Nei mesi successivi comparsa di diarrea circa volta alla settimana (4-6 scariche) per cui viene consigliato trattamento con Loperamide con parziale beneficio, e viene segnalata la comparsa di mucosite alla visita di controllo oncologico; la paziente riferisce inoltre la comparsa di astenia, tale da determinare l’interruzione delle attività quotidiane, calo ponderale di circa 2 Kg, inappetenza e perdita di capelli.

2011 Marzo: si esegue Rx torace di controllo alla quale si riscontra una “riduzione della velatura di tipo pleurico in sede basale destra, e plurime radio opacità rotondeggianti, la più voluminosa delle quali con un diametro di circa 7,5 cm in corrispondenza del terzo medio del campo polmonare”.

2011 Maggio-Giugno: quadri radiografici ed ecografici sostanzialmente immutati.

	17/2/2011	3/3/2011	10/3/2011	4/4/2011	17/5/2011	6/6/2011
TSH	0.08 mU/L	0.043 mU/L	0.08 mU/L		0.22 mU/L	0.11 mU/L
Tg	28640 ng/mL	8600 ng/mL	13228 ng/mL	9273 ng/mL	13379 ng/mL	17278 ng/mL
Ab anti-Tg	89 U/mL	<6 U/mL	60 U/mL	44 U/mL	66 U/mL	78 U/mL
Ab anti-TPO	33 U/mL	<2.5 U/mL				<2,5 U/mL

Tabella 5: Esami inerenti l'andamento della funzionalità tiroidea negli ultimi mesi.

2011 Luglio: ricovero presso l'U.O. di Medicina Generale 3 dell'Ospedale di Pisa per valutazione internistica in merito all'efficacia della terapia con Sorafenib, intrapresa a fine Gennaio, per *carcinoma tiroideo scarsamente differenziato non rispondente alla terapia con radioiodio e con chemioterapici (capecitabina)*. A seguito degli accertamenti si è riscontrata una persistente alterazione della funzione tiroidea (tabella 6):

TSH	0.024 μ U/mL	v.n. 0,4-4,0
fT4	1.45 ng/dL	v.n. 0,80-1,80
fT3	3.55 pg/mL	v.n. 1,80-4.80
Ab anti-Tg	<6 U/mL	v.n. <30
Ab anti-TPO	<2,5 U/mL	v.n. fino a 10
Tireoglobulina	23031 ng/mL	v.n. fino a 35, <3 dopo TX

Tabella 6

La scintigrafia ossea eseguita in tale occasione non evidenzia sostanziali modificazioni del quadro; la PET ha messo in evidenza “numeroso aree di patologico ipermetabolismo glucidico in sede pleurica viscerale e mediastinica destra (SUV max 7.8), polmonare destra SUV max 3.4), linfonodale mediastinica (paraortica destra con SUV max 5.7, angolo costo-frenico destro con SUV max 7.4)”. In virtù del quadro clinico viene ritenuto opportuno confermare la terapia con Sorafenib, per cui la paziente mostra una buona tolleranza.



Figura 11: TC eseguita ad Ottobre 2011, in cui si possono individuare alcune metastasi polmonari e la metastasi para-cardiaca.

Da Aprile 2012 si riscontra la comparsa di segni di ipertiroidismo, testimoniati dalle analisi ormonali ed anche dalla persistenza dell'ipertiroidismo, nonostante la riduzione del dosaggio della L-T4 (tabella 7).

Data	Tireoglobulina	TSH	fT3 (1,8-4,8)	fT4 (0,8-1,8)	Ab anti-Tg	LT4/week
apr-12	78494	0,11	6,5	1,3	125	1050
mag-12	49110	0,067	4,8	1,06	<6	1050
lug-12	36843	0,028	6,6	1,08	<6	1000
ago-12	50477	0,02	7,9	1,4	118	900
set-12	69237	0,02	8,1	1,1	172	900
ott-12	42879	0,035	5,86	0,75	<6	650
nov-12	86317	0,08	8,8	0,97	152	650
dic-12	30502	1,18	4,9	0,36	203	350

Tabella 7: esami inerenti la tiroide da Maggio 2012 a Ottobre 2012.

2012 Maggio: interruzione della terapia con Sorafenib per comparsa di diarrea incoercibile.

(Tireoglobulina 49110 ng/ml, TSH soppresso con LT4 1000 µg/settimana).

2012 Ottobre: viene eseguita una nuova pleuroscopia e talcaggio pleurico per versamento pleurico sinistro e progressione delle ripetizioni polmonari e linfonodali. Viene inoltre ulteriormente ridotta la terapia soppressiva, arrivando a 350 µg/settimana a Dicembre 2012.

2012 Dicembre: vengono ripetuti sia un rh-TSH test che una scintigrafia total-body con ¹²³I che ha mostrato *multiple aree nodulari di iodofissazione in sede pleuro-polmonare bilateralmente* (figura 12).

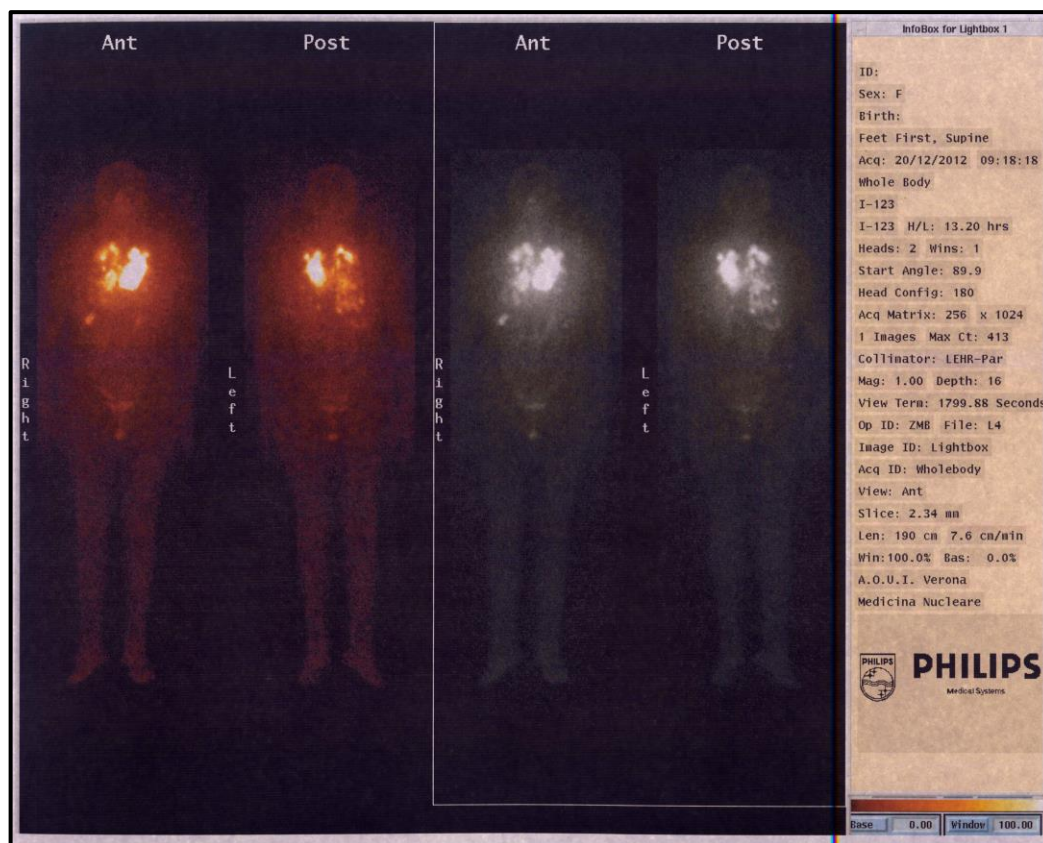


Figura 12

2013 Marzo: la paziente, in considerazione del quadro clinico, viene ricoverata presso l'U.O. di Medicina Nucleare dell'Ospedale di Pisa, dove viene sottoposta ad un nuovo trattamento con radioiodio (^{131}I 7,4 GBq dopo studio dosimetrico con ^{123}I).

Durante la degenza è stato eseguito esame ^{18}F -FDG-PET, che “posto a confronto con il controllo precedente eseguito in data 8/07/2011, mette in evidenza un'evoluzione dell'impegno secondario precedentemente descritto, con l'attuale presenza di numerose aree nodulari con patologico ipermetabolismo glucidico in sede pleurica costale e mediastinica bilaterale e pleurica diaframmatica destra (SUV max 15), in sede polmonare bilaterale (SUV max 6.4) e linfonodale para-esofagea destra (SUV max 12). Niente altro da segnalare a carico dei restanti distretti corporei esaminati” (figura 14,15).

Conclusioni

Questo caso dimostra la sorprendente efficacia della terapia con Sorafenib nel favorire il re-differenziamento di un caso di carcinoma papillare de-differenziato della tiroide con metastasi a distanza, che diventato refrattario alla terapia con radioiodio, ha ripreso a captare il ^{131}I a distanza di anni, a livelli tali che hanno permesso una nuova terapia radiometabolica.

Il symporter Na^+/I^- (NIS) è una glicoproteina transmembrana espressa soprattutto nelle cellule epiteliali follicolari tiroidee dove gioca un ruolo fondamentale nel trasporto dello iodio dallo spazio extracellulare all'interno dei tireociti per la sintesi degli ormoni tiroidei.^{74,75}

Questo è il principio biologico su cui si basa l'impiego del radioiodio ai fini diagnostici e terapeutici per diverse neoplasie, sia benigne che maligne, della tiroide. La perdita dell'espressione del NIS nelle cellule cancerose tiroidee, osservata nei carcinomi scarsamente differenziati o indifferenziati, è responsabile del fallimento della terapia radio-metabolica con ^{131}I .^{76,77,78}

Il TSH induce l'espressione del NIS, sia a livello trascrizionale che post-trascrizionale, nelle cellule follicolari tiroidee^{79,80,81} e nelle cellule cancerose differenziate della tiroide;⁸² mentre è stato mostrato che l'insulina, come anche il fattore di crescita insulino-simile-1 (IGF-1), riducono l'uptake di iodio indotto dal TSH attraverso la pathway del fosfoinositol-3-chinasi (PI3K).⁸³

Tuttavia, è stato inoltre osservato che l'elevata espressione sia del mRNA che della proteina NIS, non sempre si correla con un aumentata captazione di iodio nei tessuti tumorali tiroidei, probabilmente a causa di un'errata traslocazione del symporter a livello della membrana.^{84,85}

Diversi studi in vitro hanno mostrato che, determinando una soppressione della MAP chinasi, della pathway PI3K/Akt, e dell'istone deacetilasi (HDAC), è possibile indurre l'espressione del NIS e favorire la captazione del radioiodio in cellule tumorali sia tiroidee che non tiroidee.

Per quanto concerne i TKI, precedenti studi in vitro hanno dimostrato che il Sunitinib è stato capace di re-indurre l'espressione del NIS in cellule tiroidee presentanti la mutazione RET/PTC⁸⁶ e aumentare la captazione del radioiodio in cellule FRTL-5.⁸⁷

Durante il trattamento con Sunitinib si sono inoltre riscontrate un'alta prevalenza di ipotiroidismo, in alcuni casi anche particolarmente grave, e una significativa variabilità nell'uptake del radioiodio, la quale suggerisce fortemente che il meccanismo sottostante sia un'alterazione della captazione dello iodio.⁸⁸

Un altro studio ha mostrato che, nei topi, la sopravvivenza di cellule tumorali tiroidee presentanti la mutazione BRAF^{V600E} è strettamente legata all'oncoproteina, motivo per cui la terapia con gli inibitori di MEK o di BRAF mutato riduce l'indice di proliferazione e parzialmente ripristina l'espressione di geni tiroide-specifici. Particolarmente rilevante è l'effetto determinato dal trattamento con inibitori della pathway MAPK, ovvero rendere le cellule tumorali suscettibili a dosi terapeutiche di iodio radioattivo.⁸⁹

Più recentemente è stato condotto uno studio per determinare se il Selumetinib, inibitore di MEK1 e MEK2, potesse invertire la refrattarietà al radioiodio in pazienti con carcinoma tiroideo metastatico. Lo studio ha rivelato che, sicuramente nei pazienti presentanti la mutazione a carico di NRAS, si ha un incremento dell'uptake del ¹²⁴I e il raggiungimento della dosimetria soglia per la terapia radiometabolica, tale da permettere o una parziale regressione della malattia o una sua stabilizzazione; parziale efficacia è stata anche riscontrata nei pazienti presentanti la mutazione a carico di BRAF. Inoltre, in tutti i pazienti trattati si è potuta apprezzare una diminuzione dei livelli sierici di tireoglobulina.

Gli effetti del Sorafenib sulla ricaptazione del radioiodio e sulla progressione tumorale sono stati anche studiati su 31 pazienti con DTC, refrattari al radioiodio, localmente avanzati o metastatici. Non è stata osservata alcuna ricaptazione dello iodio nei focolai metastatici, ma si è comunque riscontrato un beneficio clinico nell'induzione o di una parziale risposta o di una stabilizzazione di malattia.

Ad oggi, questo rappresenta il primo caso descritto in cui il Sorafenib ha indotto un significativo incremento dell'uptake del radioiodio in una paziente con DTC refrattario al radioiodio, metastatico e localmente avanzato, raggiungendo il valore dosimetrico soglia per la terapia radiometabolica. Durante il periodo di terapia con Sorafenib e immediatamente dopo la sospensione, un incremento del fT3 ha suggerito che i focolai metastatici fossero in grado di produrre ormoni tiroidei, responsabili di un quadro di ipertiroidismo di media entità. Dopo l'interruzione della terapia, l'ipertiroidismo è andato lentamente in regressione, possibilmente per una progressiva diminuzione della sintesi degli ormoni tiroidei da parte del tessuto neoplastico. Questo caso suggerisce che, durante il follow-up di pazienti con DTC, refrattario alla terapia radiometabolica, trattati con Sorafenib, debba essere effettuata un'attenta valutazione degli ormoni tiroidei. In coloro i quali si riscontrasse un incremento degli ormoni tiroidei circolanti durante una stabile terapia soppressiva con LT4, può essere opportuno valutare la possibile re-induzione della capacità di captare lo iodio, in vista di una possibile reintroduzione della terapia con ¹³¹I.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Haugen BR. "Management of the patient with progressive radioiodine non-responsive disease". *Semin Surg Oncol*. 1999; 16:34-41.
- ² David S. Cooper, Gerard M. Doherty, Bryan R. Haugen, et al. "Linee guida dell'American Thyroid Association sulla gestione dei pazienti con noduli tiroidei e carcinoma differenziato della tiroide".
- ³ Krause DS, Van Etten RA. "Tyrosine kinases as targets for cancer therapy". *N Engl J Med*. 2005; 353:172-87.
- ⁴ Antonelli A, Fallahi P, Ferrari SM, Carpi A, Berti P, Materazzi G, Minuto M, Guastalli M, Miccoli P. "Differentiated thyroid cancer: a therapeutic challenge". *Biomed Pharmacother*. 2008; 62:559-63.
- ⁵ Lemoine NR, Mayall ES, Willie FS, Williams ED, Goyns M, Stringer B, Wynford-Thomas D. "High frequency of ras oncogene activation in all stages of human thyroid tumorigenesis". *Oncogene*. 1989; 4:159-64.
- ⁶ Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, Wu R, Carcangiu ML, Costa J, Tallini G. "Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2003; 21:3226-35.
- ⁷ Dwight T, Thoppe SR, Foukakis T, Lui WO, Wallin G, Höög A, Frisk T, Larsson C, Zedenius J. "Involvement of the PAX8-peroxisome proliferator-activated receptor gamma rearrangement in follicular thyroid tumors". *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88:4440-5.
- ⁸ Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, Luo R, Feng J, Ye S, Yang TS, Xu J, Sun Y, Liang H, Liu J, Wang J, Tak WY, Pan H, Burock K, Zou J, Voliotis D, Guan Z

2009 “Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomized, double –blind, placebo-controlled trial”. *Lancet Oncol* 10:25-34.

⁹ Melillo RM, Castellone MD, Guarino V, De Falco V, Cirafici AM, Salvatore G, Caiazzo F, Basolo F, Giannini R, Kruhoffer M, Orntoft T, Fusco A, Santoro M 2005 “The RET/PTC-RAS-BRAF linear signaling cascade mediates the motile and mitogenic phenotype of thyroid cancer cells”. *J Clin Invest* 115:1068-1081.

¹⁰ Kumar CC 1998 “Signaling by integrin receptors”. *Oncogene* 17:1365-1373.

¹¹ Tabernero J 2007 “The role of VEGF and EGFR inhibitor: implications for combining anti-VEGF and anti-EGFR agents”. *Mol Cancer Res* 5:203-220.

¹² Roberts PJ, Der CJ 2007 “Targeting the RAF-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer”. *Oncogene* 26:3291-3310.

¹³ Anders J, kjar S, Ibanez CF. “Molecular modeling of the extra-cellular domain of the RET receptor tyrosine kinase reveals multiple cadherin-like domains and calcium-binding site”. *J Biol Chem*. 2001;276:35808-17.

¹⁴ de Groot JW, Links TP, Plukker JT, Lips CJ, Hofstra RM. “RET as a diagnostic and therapeutic target in sporadic and hereditary endocrine tumors”. *Endocr Rev*. 2006;27:535-60.

¹⁵ Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Stewart DL, Fidler JP, Giordano TJ, Biddinger PW, Nikiforov YE. “Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas”. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:216-22.

-
- ¹⁶ Nikiforov YE, Rowland JM, Bove KE, Monforte-Munoz H, Fagin JA. "Distinct pattern of ret oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children". *Cancer Res.* 1997; 57:1690-4.
- ¹⁷ Xing M. "BRAF mutation in thyroid cancer". *Endocr Relat Cancer.* 2005; 12:245-62.
- ¹⁸ Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, Carson KA, Vasko V, Larin A, Tallini G, Tolaney S, Holt EH, Hui P, Umbricht CB, Basaria S, Ewertz M, Tufaro AP, Califano JA, Ringel MD, Zeiger Ma, Sidransky D, Ladenson PW. "BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer". *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90:6373-9.
- ¹⁹ Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, Carson KA, Vasko V, Larin A, Tallini G, Tolaney S, Holt EH, Hui P, Umbricht CB, Basaria S, Ewertz M, Tufaro AP, Califano JA, Ringel MD, Zeiger Ma, Sidransky D, Ladenson PW. "BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer". *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90:6373-9.
- ²⁰ Nikiforova, M.N.; Nikiforov, Y.E. "Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis, treatment and prognosis". *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2008, 8:83-95.
- ²¹ Nikiforova, M.N.; Nikiforov, Y.E. "Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis, treatment and prognosis". *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2008, 8:83-95.
- ²² Nikiforova, M.N.; Nikiforov, Y.E. "Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis, treatment and prognosis". *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2008, 8:83-95.

-
- ²³ Herbst RS, Heymach JV, O'Reilly MS, Onn A, Ryan AJ. "Vandetanib (ZD6474): an orally available receptor tyrosine kinase inhibitor that selectively targets pathways critical for tumor growth and angiogenesis". *Expert Opin Investigational Drugs* 2007; 16:239-49.
- ²⁴ Wedge SR, Ogilvie DJ, Dukes M, Kendrew J, Chester R, Jackson JA, et al. "ZD6474 inhibits vascular endothelial growth factor signaling, angiogenesis, and tumor growth following oral administration". *Cancer Res* 2002; 62:4645-55.
- ²⁵ Vieira JM, Santos SC, Espadinha C, Correia I, Vag T, Casalou C, Cavaco BM, Catarino AL, Dias S, Leite V. "Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in thyroid carcinomas of follicular origin: a potential autocrine loop". *Eur J Endocrinol*. 2005; 153:701-9.
- ²⁶ Kim DW, Jo YS, Jung HS, Chung HK, Song JH, Park KC, et al. "An orally administered multitarget tyrosine kinase inhibitor, SU11248, is a novel potent inhibitor of thyroid oncogenic RET/papillary thyroid cancer kinases". *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4070-6.
- ²⁷ Kelleher FC, McDermot R. "Response to sunitinib in medullary thyroid cancer". *Ann Intern Med* 2008; 148:567.
- ²⁸ Dawson SJ, Conus NM, Toner GC, Raleigh JM, Hicks RJ, McArthur G, et al. "Sustained clinical responses to tyrosine kinase inhibitor sunitinib in thyroid carcinoma". *Anticancer Drugs* 2008; 19:547-52.
- ²⁹ Cohen EEW, Needles BM, Cullen KJ, Wong S, Wade J, ivy P, et al. "Phase 2 study of sunitinib in refractory thyroid cancer". *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 2008; 26:6025.
- ³⁰ Carr I, Goulart B, Martins R, Keith E, Kell E, Wallace S, et al. "Phase II trial of continuous dosing of sunitinib in advanced, FDG-PET avid, medullary thyroid carcinoma (MTC) and

well-differentiated thyroid cancer (WDTC)". J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2009; 27:6056.

³¹ Polverino A, Coxon A, Starnes C, Diaz Z, DeMelfi T, Wang L, et al. "AMG 706, an oral, multikinase inhibitor that selectively targets vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and kit receptors, potently inhibits angiogenesis and induces regression in tumor xenografts". Cancer Res 2006; 66:8715-21.

³² Sherman SI, Wirth LJ, Droz JP, Hofmann M, Bastholt L, Martins RG, et al. "Motesanib diphosphate in progressive differentiated thyroid cancer". New England J Med 2008; 359:31-42.

³³ Xing M. "BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications". Endocrine Rev 2007; 28:742-62.

³⁴ Sherman SI, Schlumberger MJ, Elisei R, Wirth L, Bastholt L, Droz J-P, et al. "Exacerbation of postsurgical hypothyroidism during treatment of thyroid carcinoma with motesanib diphosphate (AMG 706)". 89th annual meeting of the Endocrine Society. Toronto, ON; 2007.

³⁵ Inai T, Mancuso M, Hashizume H, Baffert F, Haskell A, Baluk P, et al. "Inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in cancer causes loss of endothelial fenestrations, regression of tumor vessels, and appearance of basement membrane ghosts". Am J Pathol 2004; 165:35-52.

³⁶ Cohen EE, Rosen LS, Vokes EE, Kies MS, Forastiere AA, Worden FP, et al. "Axitinib is an active treatment for all histologic subtypes of advanced thyroid cancer: results from a phase II study". J Clin Oncol 2008; 26:4708-13.

-
- ³⁷ Bible KC, Smallridge RC, Maples WJ, Molina JR, Menefee ME, Suman VJ, et al. "Phase II trial of pazopanib in progressive, metastatic, iodine-insensitive differentiated thyroid cancers". J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2009; 27:3521.
- ³⁸ de Groot JW, Plaza Menacho I, Schepers H, Drenth-Diephuis LJ, Osinga J, Plukker JT, et al. "Cellular effects of imatinib on medullary thyroid cancer cells harboring multiple endocrine neoplasia Type 2A and 2B associated RET mutations". Surgery 2006; 139:806-14.
- ³⁹ Skinner MA, Safford SD, Freerman AJ. "RET tyrosine kinase and medullary thyroid cells are unaffected by clinical doses of STI571". Anticancer Res 2003; 23:3601-6.
- ⁴⁰ Buchdunger E, O'Reilley T, Wood J. "Pharmacology of imatinib (STI571)". Eur J Cancer 2002; 38:S28-36.
- ⁴¹ Frank-Raue K, Fabel M, Delorme S, Haberkorn U, Raue F. "Efficacy of imatinib mesylate in advanced medullary thyroid carcinoma". Eur J Endocrinol 2007; 157:215-20.
- ⁴² de Groot JW, Zonnenberg BA, Quarles van Ufford-Mannesse P, de Vries MM, Links TP, Lips CJ, et al. "A phase-II trial of imatinib therapy for metastatic medullary thyroid carcinoma". J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:3466-9.
- ⁴³ Pennell NA, Daniels GH, Haddad RI, Ross DS, Evans T, Wirth LJ, et al. "A phase II study of gefitinib in patients with advanced thyroid cancer". Thyroid 2007; 18:317-23.
- ⁴⁴ Banerji U, Camidge DR, Verheul HM, et al. "The first-in-human study of the hydrogen sulfate (Hyd-sulfate) capsule of the MEK1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886): a phase I open label multicenter trial in patients with advanced cancer". Clin Cancer Res 2010; 16:1613-23.

-
- ⁴⁵ Alan L. Ho, Ravinder K. Grewal, Rebecca Leboeuf, Eric J. Sherman, David G. Pfister, Desiree, Deandreis, Keith S. Pentlow, Pat B. Zanzonico, Sofia Haque, Somali Gavane, Ronald A Ghossein, Julio C. Ricarte-Filho, Josè M. Domínguez, Ronglai Shen, Michael Tuttle, Steve M. Larson, James A. Fagin. “Selumetinib- Enhanced Radioiodine Uptake in Advanced Thyroid Cancer”. *N Engl J Med* 2013; 368:623-32.
- ⁴⁶ Arturi F, Russo D, Schlumberger M, du Villard JA, Caillou B, Vigneri P, Wicker R, Chiefari E, Suarez HG & Filetti S. “Iodide symporter gene expression in human thyroid tumors”. 1998; 83:2493-2496.
- ⁴⁷ Lazar V, Bidart JM, Caillou B, Mahe C, Lacroix L, Filetti S & Schlumberger M. “Expression of the Na⁺/I⁻ symporter gene in human thyroid tumors: a comparison study with other thyroid-specific genes”. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84:3228-3234.
- ⁴⁸ Arturi F, Russo D, Giuffrida D, Schlumberger M & Filetti S. “Sodium-iodide symporter (NIS) gene expression in lymph-node metastases of papillary thyroid carcinomas”. *European Journal of Endocrinology* 2000; 143:623-627.
- ⁴⁹ Jhiang SM, Cho JY, Furminger TL, Sagartz JE, Tong Q, Capen CC & Mazzaferri EL. “Thyroid carcinomas in RET/PTC transgenic mice”. *Recent Results in Cancer Research* 1998; 154:265-270.
- ⁵⁰ Cho JY, Sagartz JE, Capen CC, Mazzaferri EL, & Jhiang SM. “Early cellular abnormalities induced by RET/PTC1 oncogene in thyroid-targeted transgenic mice”. *Oncogene* 1999; 18:3659-3665.

-
- ⁵¹ Buckwalter TL, Venkateswaran A, Lavender M, La Perle KM, Cho JY, Robinson ML, & Jhiang SM. “The roles of phosphotyrosines-294, -404, and -451 in RET/PTC1- induced thyroid tumor formation”. *Oncogene* 2002; 21:8166-8172.
- ⁵² Trapasso F, Iuliano R, Chiefari E, Arturi F, Stella A, Filetti S, Fusco A & Russo D. “Iodide symporter gene expression in normal and transformed rat thyroid cells”. *European Journal of Endocrinology* 1999; 140:447-451.
- ⁵³ Venkateswaran A, Marsee DK, Green SH & Jhiang SM. “Forskolin, 8-Br-3',5'-cyclic adenosine 5'-monophosphate, and catalytic protein kinase A expression in the nucleus increase radioiodide uptake and sodium/iodide symporter protein levels in RET/PTC1-expressing cells”. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89:6168-6172.
- ⁵⁴ Douangson D, Vadysirisack, Anjli Venkateswaran, Zhaoxia Zhang, Sissy M Jhiang. “MEK signaling modulates sodium iodide symporter at multiple levels and in a paradoxical manner”. *Endocrine Related Cancer* 2007; 14:421-432.
- ⁵⁵ Ibrahim N, Yu Y, Walsh WR, Yang JL. “Molecular targeted therapies for cancer: sorafenib mono-therapy and its combination with other therapies (review)”. *Oncol Rep.* 2012; 27:1303-11.
- ⁵⁶ Kitazono M, Robey R, Zhan Z, Sarlis NJ, Skarulis MC, et al. “Low concentrations of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide (FR901228), increase expression of the Na⁺/I⁻ symporter and iodine accumulation in poorly differentiated thyroid carcinoma cells”. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3430-5.

-
- ⁵⁷ Zarnegar R, Brunaud L, Kanauchi H, Wong M, Fung M, et al. “Increasing the effectiveness of radioactive iodine therapy in the treatment of thyroid cancer using Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor”. *Surgery* 2002; 132:984-90.
- ⁵⁸ Hou P, Bojdani E, Xing M. “Induction of thyroid gene expression and radioiodine uptake in thyroid cancer cells by targeting major signaling pathways”. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:820-8.
- ⁵⁹ Matsuse M, Mitsutake N, Tanimura S, Ogi T, Nishihara E, Hirokawa M, Fuziwara CS, Saenko VA, Suzuki K, Miyauchi A, Yamashita S. “Functional characterization of the novel BRAF complex mutation, BRAF(V600delinsM), identified in papillary thyroid carcinoma”. *Int J Cancer*. 2013; 132:738-43.
- ⁶⁰ Richly H, Henning BF, Kupsch P, Passarge K, Grubert M, Hilger RA, Christensen O, Brendel E, Schwartz B, Ludwig M, Flashar C, Voigtmann R, Scheulen ME, Seeber S, Strumberg D. “Results of a phase I trial of sorafenib (BAY 43-9006) in combination with doxorubicin in patients with refractory solid tumors”. *Ann Oncol*. 2006; 17:866-73.
- ⁶¹ Spigel DR, Burris HA III, Greco FA, Shipley DL, Friedman EK, Waterhouse DM, Whorf RC, Mitchell RB, Daniel DB, Zangmeister J, Bass JD, Hainsworth JD. “Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II trial of sorafenib and erlotinib or erlotinib alone in previously treated advanced non-small cell lung cancer”. *J Clin Oncol*. 2011; 29:2582-9.
- ⁶² Kim S, Yazici YD, Calzada G, Wang ZY, Younes MN, Jasser SA, El-Naggar AK, Myers JN. “Sorafenib inhibits the angiogenesis and growth of orthotopic anaplastic thyroid carcinoma xenografts in nude mice”. *Mol Cancer Ther*. 2007; 6:1785-92.

-
- ⁶³ Carlomagno F, Anaganti S, Guida T, Salvatore G, Troncone G, Wilhelm SM, Santoro M. “BAY 43-9006 inhibition of oncogenic RET mutants”. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98:326-34.
- ⁶⁴ Gupta-Abramson V, Troxel AB, Nellore A, Puttaswamy K, Redlinger M, Ransone K, Mandel SJ, Flaherty KT, Loevner LA, O'Dwyer PJ, Brose MS. “Phase II trial of sorafenib in advanced thyroid cancer”. *J Clin Oncol.* 2008; 26:4714-9.
- ⁶⁵ Kloss RT, Ringel MD, Knopp MV, Hall NC, King M, Stevens R, Liang j, Wakely PE Jr, Vasko VV, Saji M, Rittenberry J, Wei L, Arbogast D, Collamore M, Wright JJ, Grever M, Shah MH. “Phase II trial of sorafenib in metastatic thyroid cancer”. *J Clin Oncol.* 2009; 27:1675-84.
- ⁶⁶ Hoftijzer H, Heemstra KA, Morreau H, Stokkel MP, Corssmit EP, Gelderblom H, Weijers K, Pereira AM, Huijberts M, Kapiteijn E, Romijn JA, Smith JW. “Beneficial effects of sorafenib on tumor progression, but not on radioiodine uptake, in patients with differentiated thyroid carcinoma”. *Eur J Endocrinol.* 2009; 161:923-31.
- ⁶⁷ Ahmed M, Barbachano Y, Riddell A, Hickey J, Newbold KL, Viros A, Harrington KJ, Marais R, Nutting CM. “Analysis of the efficacy and toxicity of sorafenib in thyroid cancer: a phase II study in a UK based population”. *Eur J Endocrinol.* 2011; 165:315-22.
- ⁶⁸ Capdevilla J, Iglesias L, Halperin I, Segura A, Martínez-Trufero J, Vaz MÁ, Corral J, Obiols G, Grande E, Grau JJ, Tabernero j. “Sorafenib in metastatic thyroid cancer”. *Endocr Related Cancer.* 2012; 19:209-16.
- ⁶⁹ Schneider TC, Abdulrahman RM, Corssmit EP, Morreau H, Smit JW, Kapiteijn E. “Long term analysis of the efficacy and tolerability of sorafenib in advanced radio-iodine refractory

differentiated thyroid carcinoma: final results of a phase II trial”. *Eur J Endocrinol*. 2012; 167:643-50.

⁷⁰ Marotta V, Ramundo V, Camera L, Del Prete M, Fonti R, Esposito R, Palmieri G, Salvatore M, Vitale M, Colao A, Faggiano A. “Sorafenib in advanced iodine-refractory differentiated thyroid cancer: efficacy, safety and exploratory analysis of role of serum thyroglobulin and FDG-PET”. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013; 78:760-7.

⁷¹ Cohen SM, Mukerji R, Timmermann BN, Samadi AK, Cohen MS. “A novel combination with withaferin A and sorafenib shows synergistic efficacy against both papillary and anaplastic thyroid cancers”. *Am J Surg*. 2012; 204:895-900.

⁷² Faustino A, Couto JP, Pópulo H, Rocha AS, Pardal F, Cameselle-Teijeiro JM, Lopes JM, Sobrinho-Simões M, Soares P. “mTOR pathway overactivation in BRAF mutated papillary thyroid carcinoma”. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97:E1139-49.

⁷³ Libo Chen, Yan Shen, Quanyong Luo, Yongli Yu, Hankui Lu, Ruisen Zhu. “Response to Sorafenib at a Low Dose in Patients with Radioiodine-Refractory Pulmonary Metastases from Papillary Thyroid Carcinoma”. *Thyroid* 2011; 21:119-24.

⁷⁴ Zhi L, Mingzhao Xing. “Induction of Sodium/Iodide Symporter (NIS) expression and radioiodine Uptake in non Thyroid cancer cells”. *PLoS One* 2012; 7 (2) epub 2012 feb 16.

⁷⁵ . Hingorani M, Spitzweg C, Vassaux G, Newbold K, Melcher A, et al. “The biology of the sodium iodide symporter and its potential for targeted gene delivery”. *Curr Cancer Drug Targets* (2010) 10: 242–67.

⁷⁶ Smanik PA, Ryu KY, Theil KS, Mazzaferri EL, Jhiang SM. “Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium iodide symporter”. *Endocrinology* (1997) 138: 3555–8.

-
- ⁷⁷ Caillou B, Troalen F, Baudin E, Talbot M, Filetti S, et al. "Na⁺/I⁻ symporter distribution in human thyroid tissues: an immunohistochemical study". *J Clin Endocrinol Metab* (1998) 83: 4102–6.
- ⁷⁸ Park HJ, Kim JY, Park KY, Gong G, Hong SJ, et al. "Expressions of human sodium iodide symporter mRNA in primary and metastatic papillary thyroid carcinomas". *Thyroid* (2000) 10: 211–7.
- ⁷⁹ Kogai T, Endo T, Saito T, Miyazaki A, Kawaguchi A, Onaya T. "Regulation by thyroid-stimulating hormone of sodium/iodide symporter gene expression and protein levels in FRTL-5 cells". *Endocrinology*. 1997 Jun;138(6):2227-32.
- ⁸⁰ Riedel C, Levy O, Carrasco N. "Post-transcriptional regulation of the sodium/iodide Symporter by thyrotropin". *J Biol Chem* 2001, 276: 21458-63.
- ⁸¹ Taki K, Kogai T, Kanamoto Y, Hershman JM, Brent GA. "A thyroid-specific far-upstream enhancer in the human sodium/iodide symporter gene requires Pax-8 binding and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response element-like sequence binding proteins for full activity and is differentially regulated in normal and thyroid cancer cells". *Mol Endocrinol* 2002 Oct;16(10):2266-82.
- ⁸² Saito T, Endo T, Kawaguchi A, Ikeda M, Katoh R, Kawaoi A, Muramatsu A, Onaya T. "Increased expression of the sodium/iodide symporter in papillary thyroid carcinomas". *J Clin Invest* 1998, 101: 1296-300.
- ⁸³ Saji M, Kohn LD. "Insulin and insulin-like growth factor-I inhibit thyrotropin-increased iodide transport in serum-depleted FRTL-5 rat thyroid cells: modulation of adenosine 3',5'-monophosphate signal action". *Endocrinology* 1991, 128: 1136-43.

-
- ⁸⁴ Riesco-Eizaguirre G, Gutierrez-Martinez P, Garcia-Cabezas MA, Nistal M & Santisteban P. “The oncogene BRAFV600E is associated with a high risk of recurrence and less differentiated papillary thyroid carcinoma due to the impairment of NaC/IK targeting to the membrane”. *Endocrine-Related Cancer* 2006 13 257–267.
- ⁸⁵ Dohán O, Baloch Z, Bánrévi Z, Livolsi V, Carrasco N. “Rapid communication: predominant intracellular overexpression of the Na(+)/I(-) symporter (NIS) in a large sampling of thyroid cancer cases”. *JCEM* 2001, 86: 2697-700.
- ⁸⁶ Fenton MS, Marion K, Salem AK, Hogen R, Naeim F & Hershman JM. “Induction of cell cycle arrest by sunitinib through inhibition of the MEK/ERK pathway in RET/PTC1 papillary thyroid cancer cells”. 90th Annual Meeting of the Endocrine Society, San Francisco (abstract), 1990.
- ⁸⁷ Salem AK, Fenton MS, Marion KM & Hershman JM. “Effect of sunitinib on growth and function of FRTL-5 thyroid cells”. *Thyroid* 2008 18 631–635.
- ⁸⁸ Mannavola D, Coco P, Vannucchi G, Bertuelli R, Carletto M, Casali PG, Beck-Peccoz P, Fugazzola L. “A novel tyrosine-kinase selective inhibitor, sunitinib, induces transient hypothyroidism by blocking iodine uptake”. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(9):3531-4.
- ⁸⁹ Chakravarty D, Santos E, Ryder M, Knauf JA, Liao XH, West BL, Bollag G, Kolesnick R, Thin TH, Rosen N, Zanzonico P, Larson SM, Refetoff S, Ghossein R, Fagin JA. “Small-molecule MAPK inhibitors restore radioiodine incorporation in mouse thyroid cancers with conditional BRAF activation”. *J Clin Invest.* 2011 Dec;121(12):4700-11.